

**Polymeranalytische Charakterisierung mittels  
Größenausschlußchromatographie, Fluß Feld-Fluß  
Fraktionierung und Lichtstreuung von  
Polysaccharid-Derivaten**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

des Fachbereiches Chemie

der Universität Hamburg

Institut für Technische und Makromolekulare Chemie

vorgelegt von Carola I. Gosch

aus Hamburg

**Hamburg 2002**

**Gutachter der Dissertation:**

1. Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke
2. Prof. Dr. C. Benndorf

**Gutachter der Disputation:**

1. Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke
2. Prof. Dr. C. Benndorf
3. PD Dr. A. Eychmüller

Datum der Disputation: 06.05.2002

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum vom Juli 1999 bis Juli 2001 am Institut für Technische und Makromolekulare Chemie der Universität Hamburg unter der Leitung von Herrn Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke angefertigt.

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

Herrn Prof. Dr. C. Benndorf danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Herrn Prof. Dr. B. A. Wolf und seiner Mitarbeiterin Frau Dipl.-Chem. T. Haase, Universität Mainz, danke ich für die Bereitstellung der mittels kontinuierlicher Polymerfraktionierung getrennten Hydroxyethylstärke-Proben und die zahlreichen interessanten Gespräche.

Frau Dr. W. Vorweg und Frau Dr. S. Radosta, Fraunhofer Institut für Angewandte Polymerforschung, Golm, danke ich für die Überlassung der Hydroxypropylstärken sowie den interessanten Diskussionen im Rahmen des Verbundprojektes „Modifizierte Stärken“ unter der Projektträgerschaft der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe.

Herrn Prof. Dr. T. Heinze und seiner Mitarbeiterin Dr. V. Haack danke ich für die Synthese der 2-*O*-Acetylstärken sowie die informationsreichen Gespräche.

Allen Arbeitskreismitgliedern möchte ich für die gute Zusammenarbeit und die zahlreichen Diskussionen danken. Mein besonderer Dank gilt hierbei Herrn Dr. G. Oelmeyer, Herrn Dr. J. Beister und Herrn M. Knarr für die freundschaftliche Zusammenarbeit.

Meinen Freunden und Studienkollegen S. Sölter und M. Boysen möchte ich für ihre Unterstützung, Hilfe und Freundschaft während unseres gemeinsamen Studiums danken.

Meiner Familie danke ich für die umfassende Unterstützung während des Studiums und der Promotionszeit.

Mein besonderer Dank gilt Oliver, der mir stets hilfreich und aufbauend zur Seite stand.

## **Publikationen**

### **Veröffentlichungen**

C. Gosch, J. Beister, W.-M. Kulicke:

„Bestimmung der Molmasse und Teilchengröße sowie deren absolute Verteilung von Polysacchariden mit Hilfe gekoppelter Analysemethoden“

Nachwachsende Rohstoffe für die Chemie 7. Symposium 2001, Bd. 18, S. 575 – 579 (2001). ISBN-Nr.-3-7843-3126-2.

C. Gosch, T. Haase, D. Heins, B. A. Wolf, W.-M. Kulicke:

„Molar-Mass Distribution and Size of Hydroxyethyl Starch Fractions obtained by Continuous Polymer Fractionation“

*starch/stärke in Druck.*

### **Posterbeiträge**

J. Beister, C. Gosch, W.-M. Kulicke:

„Synthese und Charakterisierung von Polysaccharid-Derivaten“

XXIII. Hamburger Makromolekulares Symposium, Polymeranalytik, Charakterisierung von Polymeren und makromolekularen Strukturen, 25. - 26. September 2000, Hamburg, ISBN 3-8265-7819-8.

C. Gosch, W.-M. Kulicke, J. Beister:

„Bestimmung der Molmasse und Teilchengröße sowie deren absolute Verteilung von Polysacchariden mit Hilfe gekoppelter Analysemethoden“

7. Symposium Nachwachsende Rohstoffe für die Chemie, Dresden 20. bis 22. März 2001.

## Vorträge

C. Gosch, W.-M. Kulicke:

„Bestimmung der absoluten Molmassen- und Teilchengrößenverteilung von partikulären, gelösten und aggregathaltigen Polymeren“

XXIII. Hamburger Makromolekulares Symposium, Polymeranalytik, Charakterisierung von Polymeren und makromolekularen Strukturen, 25. - 26. September 2000, ISBN 3-8265-7819-8.

C. Gosch, W.-M. Kulicke:

„Hydroxypropylierung von Stärke für die Entwicklung transparenter Gießfolien: Charakterisierung der Hydroxypropylstärke hinsichtlich ihrer Molmasse sowie Molmassenverteilung“

2. Verbundtreffen zum Verbund „Modifizierte Stärke“, 7. November 2000, Golm.

C. Gosch, J. Beister, W.-M. Kulicke:

„Use of Combined Techniques SEC/MALLS/DRI and FFFF/MALLS/DRI to Characterize Water-Soluble Polysaccharides and Polyelectrolytes“

Poly Millennium 2000, Hilton Waikoloa Villages, Waikoloa, Hawaii, December 9 - 13 2000, ACS, POLY International Polymer Symposium Committee.

W.-M. Kulicke, C. Gosch, J. Beister:

„Molmassen- und Teilchengrößenverteilung von wasserlöslichen Polymeren mittels SEC und symmetrischer/asymmetrische  $F^4$  (Flow Field-Flow Fractionation)“

Dechema Diskussionstagung Neue Methoden der Polymeranalytik, 2. - 3. April 2001, Mainz.



## Zusammenfassung

Werkstoffen auf Basis von nachwachsenden Rohstoffen kommt heutzutage aufgrund ihrer biologischen Abbaubarkeit, Umweltverträglichkeit sowie physiologischen Verträglichkeit eine steigende Bedeutung zu. Wirtschaftlich nehmen Polysaccharide wie Stärke und Cellulose in der chemischen Industrie die bedeutendste Stellung ein.

Für den Einsatz der Biopolymere ist eine genaue Charakterisierung notwendig, um das gewünschte Eigenschaftsprofil exakt einzustellen. Die Molmasse und Teilchengröße sowie deren Verteilungen beeinflussen maßgeblich die Eigenschaften von Lösungen derartiger Polymere. Zur polymeranalytischen Charakterisierung dieser Parameter bieten sich je nach dem zu untersuchenden Material Analysemethoden wie die Größenausschlußchromatographie (SEC) oder Feld-Fluß Fraktionierung (FFF) jeweils gekoppelt mit Vielwinkellichtstreuung (MALLS) und Konzentrationsdetektion (RI) an. Dabei ist die Charakterisierung wasserlöslicher Biopolymere oftmals z.B. aufgrund des unterschiedlichen Verhaltens gleicher Substanzen unterschiedlicher Herkunft problematisch. Meist sind die Molmassenverteilungen sowie die Radien nur unzureichend oder gar nicht bekannt.

Ziel dieser Arbeit war es, ausgewählte wasserlösliche Polysaccharide hinsichtlich ihrer Molmasse und ihrer Radien sowie deren Verteilungen zu charakterisieren. Struktur-Eigenschafts-Beziehungen ermöglichen eine Beschreibung des Zusammenhangs zwischen molekularen Parametern und der Eigenschaften dieser Polymere. Die  $R_G$ -M-Beziehung und  $[\eta]$ -M-Beziehung, die hier als wichtigste Struktur-Eigenschafts-Beziehungen gelöster Polymere genannt werden sollen, stellen einen Zusammenhang zwischen dem Trägheitsradius  $R_G$  bzw. dem Staudinger-Index  $[\eta]$  und der Molmasse  $M$  des Makromoleküls her. Zur Bestimmung dieser Parameter wurden im Verlauf der Arbeit gekoppelte Anlagen, bestehend aus einer Fraktioniereinheit - wie der Größenausschlußchromatographie, der symmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung (sFFFF) oder der asymmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung (aFFFF) - mit Vielwinkellichtstreuphotometer und Konzentrationsdetektion, eingesetzt. Neben Untersuchungen an Glucanen und Guarkernmehl lag der Schwerpunkt dieser Arbeit auf der Charakterisierung von Stärke und Stärke-Derivaten.

Zunächst wurden sechs ungeladene Gerstenglucane sowie ein anionisches, carboxymethyliertes  $\beta$ -D-Glucan charakterisiert. Die lichtstreutechnischen Untersuchungen an den Gerstenglucanen ergaben, daß die Viskosität, mittels derer diese Substanzen vom Hersteller charakterisiert werden, maßgeblich durch hochmolekulare Bestandteile beeinflusst wird, die nur in geringen Konzentrationen in der Probe enthalten sind. Das Lösungsverhalten der Gerstenglucane ist hinsichtlich ihrer Molmasse unterschiedlich. So liegt höhermolekulares Gerstenglucan mit  $M_w$  von 304.000 g/mol frei von Aggregat-/Assoziatanteilen vor, niedermolekulareres mit  $M_w$  von 150.000 bzw. 230.000 g/mol hingegen neigt zu Aggregat-/Assoziatbildung, was man aus den ermittelten Exponenten  $\nu$  der  $R_G$ -M-Beziehung von 0,51 bzw. 0,31 schließen kann. Durch die Bestimmung der Molmassenverteilungen mit Hilfe der SEC/MALLS/RI-Anlage konnten an den Gerstenglucanen erstmals erfolgreich rheo-optische Untersuchungen durchgeführt werden. Ein Vergleich der Fraktionierung der niedermolekulareren Gerstenglucane bei unterschiedlicher Säulentemperatur bestätigt die mittels rheo-optischer Methoden ermittelte Thermoreversibilität der Aggregatanteile. Das carboxymethylierte  $\beta$ -D-Glucan liegt vollkommen molekular dispers gelöst vor und anhand dieses Systems läßt sich eine  $R_G$ -M-Beziehung der Form  $R_G = 0,025 \cdot M^{0,58}$  aufstellen.

Die Guarkernmehle, die kurzkettenverzweigt sind und deren chemische Struktur zwischen linearen und verzweigten Molekülen angesiedelt werden kann, wurden zu vergleichenden Untersuchungen zwischen den Glucanen und Stärke-Derivaten herangezogen. Von Guarkernmehlen, die Anwendung in der Lebensmittel- und kosmetischen Industrie finden, sind bislang keine Struktur-Eigenschafts-Beziehungen bekannt. Hier zeigen die SEC/MALLS/RI-Messungen, daß sich das niedermolekulare Guarkernmehl ( $M_w = 74.000$  g/mol) hinsichtlich seiner Lösungsstruktur wie ein verzweigtes, das höhermolekulare ( $M_w = 1.900.000$  g/mol) hingegen wie ein lineares Makromolekül verhält. Die Proben liefern je nach Molmasse die  $R_G$ -M-Beziehung  $R_G = 0,352 \cdot M^{0,37}$  für die niedermolekulare und  $R_G = 0,069 \cdot M^{0,52}$  für die hochmolekulare Probe.

Wachsmaisstärken, deren Anteil an verzweigtem Amylopektin über 99 % liegt, dienen als Ausgangsstoffe für die pharmakologisch eingesetzten Stärke-Derivate. In Zusammenarbeit mit dem Arbeitskreis Prof. Dr. T. Heinze, Universität Jena/Wuppertal, sollten aus der Wachsmaisstärke (WMS) überwiegend in Position C-2 substituierte Acetylstärken, welche in der Medizin als Blutplasmaersatzmittel eingesetzt werden sollen, hergestellt werden

und diese hinsichtlich ihres Lagerverhaltens in Lösung untersucht werden. Hierzu mußte die native WMS auf Molmassen im Bereich von 100.000 – 500.000 g/mol abgebaut werden, wofür entweder Ultraschalldegradation oder enzymatischer Abbau eingesetzt werden konnte. Die Untersuchungen hinsichtlich des Abbauverhaltens ergaben, daß beim Ultraschallabbau mit zunehmender Abbaudauer im Streulichtsignal eine Bimodalität auftritt. Beim enzymatischen Abbau kann es zwar auch zum Abbau bis hin zu Oligo- und Monomeren kommen, so daß eine aufwendige Aufarbeitung der abgebauten Produkte notwendig wird, diese Methode bietet jedoch die Möglichkeit zur Herstellung großer Mengen abgebauter Substanz. Eine Untersuchung der Molmasse zwei Proben mit Molmassen von 414.000 bzw. 221.000 g/mol hinsichtlich der Lagerstabilität zeigte einen kontinuierlichen Abbau der Molmasse bis zum 81. Tag der Lagerung in Lösung. Hierbei ging die Molmasse der Proben auf ca. 40 % ( $M_w = 172.000$  bzw.  $85.000$  g/mol) des Ausgangswertes zurück. Danach trat bei allen Proben ein Sprung in der Molmasse auf, der sich nur durch Bildung von Aggregaten erklären läßt. Hier stieg die Molmasse für die höhermolekulare Probe von  $172.000$  g/mol nach 74 Tagen Lagerung auf  $216.000$  g/mol an, für die niedermolekulare Probe fand ein Anstieg auf  $297.000$  g/mol nach dem 81. Tag der Lagerung statt, was 134 % der Ausgangsmolmasse ausmacht.

Hydroxyethylstärke (HES) wird heute im großen Umfang als Blutplasmaersatzmittel eingesetzt. Dabei ist neben der Molmasse die Molmassenverteilung von entscheidendem Einfluß. Zum einen wird die Pharmakokinetik (Verweildauer, onkotischer Druck) über die Verteilung reguliert, zum anderen sind insbesondere die nieder- und hochmolekularen Bestandteile an den unerwünschten Nebenwirkungen wie beispielsweise anaphylaktoider Schock oder langanhaltender Juckreiz maßgeblich beteiligt.

Für die Arbeit standen zum einen kommerziell eingesetzte Proben und zum anderen von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. B. A. Wolf, Universität Mainz, mittels kontinuierlicher Polymerfraktionierung (continuous polymer fractionation, CPF) getrennte HES-Proben zur Verfügung.

Vergleichende Untersuchungen der verschiedenen Fraktionierungsmethoden anhand einer kommerziellen Probe zeigen gute Übereinstimmungen hinsichtlich der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$ , die für SEC/MALLS/RI-Messungen  $M_w = 198.000$  g/mol und für sFFFF/MALLS/RI-Messungen  $M_w = 207.000$  g/mol ergibt. Gerade bei den sFFFF/MALLS/RI-Messung fällt jedoch auf, daß die niedermolekularen Bestandteile der

Probe nicht ausreichend erfaßt werden, was zum einen durch schlechtere Abtrennung und zum anderen durch Austragen aus dem Kanalsystem durch die Membran erklärt werden kann.

Lagerstabilitätsuntersuchungen an den kommerziellen HES-Proben zeigten unterschiedliches Verhalten. So erwies sich die geringfügig niedermolekulare Probe mit 170.000 g/mol als lagerstabil hinsichtlich ihrer Molmasse. Die Molmasse der leicht höhermolekularen Probe sinkt über eine Lagerungsdauer von 108 Tagen von 198.000 g/mol auf einen Wert von 81,5 % ( $M_w = 162.000$  g/mol) der Ausgangsmolmasse.

Die Untersuchungen an drei im Arbeitskreis von Prof. Dr. B. A. Wolf, Universität Mainz, mittels CPF getrennten HES-Proben zeigten, daß diese Methode exzellent zur Abtrennung niedermolekularer Bestandteile geeignet ist. Eine Aufstellung der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen dieser Proben zeigt für alle Fraktionen einen für verzweigte Moleküle typischen Exponenten  $\nu$  kleiner als 0,5. Die stoffspezifische Konstante  $k_{R_G}$  stimmt nur im Rahmen der exponentiellen Größe überein, nicht jedoch in ihrem Zahlenwert. Hier, sowie in der Umrechnung dieser gemessenen  $R_G$ -M-Beziehungen in die gegebenenfalls auch zu bestimmenden  $[\eta]$ -M-Beziehungen, macht sich das Fehlen einer Theorie für verzweigte Moleküle bemerkbar. Die Umrechnung der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen ineinander ermöglicht bei geltenden Theorien eine einfache und umfassende Aussage über die Eigenschaften der Moleküle in Lösung.

Acetylstärke (AS) wird heute zunehmend als alternatives Blutplasmaersatzmittel zu HES diskutiert. Sie ist im Gegensatz zu HES vollständig metabolisierbar und weist die gleichen positiven Eigenschaften wie HES auf. Ein Problem der AS ist jedoch die schlechte Lagerstabilität. Das Substitutionsmuster der herkömmlich hergestellten AS weicht mit einer Substitution überwiegend in Position 3 von dem der HES, die vornehmlich in Position 2 substituiert ist, ab. Überwiegend in Position C-2 substituierte AS, welche aus der enzymatisch abgebauten Wachsmaisstärke von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. T. Heinze, Universität Jena/Wuppertal, synthetisiert wurde, sollte im Rahmen dieser Arbeit hinsichtlich ihrer Lagerstabilität in Lösung untersucht werden.

Die Untersuchungen ergaben eine Abhängigkeit der Lagerstabilität von der Molmasse. So zeigten die höhermolekularen Proben mit Ausgangsmolmassen von 709.000 bzw. 517.000 g/mol eine exponentielle Abnahmen der Molmasse mit der Lagerungsdauer. Nach

107 Tagen Lagerung sinkt die Molmasse auf 72,2 % ( $M_w = 512.000$  g/mol) bzw. 76,2 % ( $M_w = 394.000$  g/mol) ab. Die niedermolekulareren Proben mit Molmassen von 260.000 bzw. 151.000 g/mol sind hingegen lagerstabil.

Hydroxypropylstärke (HPS), welche u.a. als Gießfolien Verwendung findet, wurde als weiteres Stärke-Derivat charakterisiert. Die Proben wurden vom Fraunhofer Institut für Polymerforschung, Golm, im Rahmen eines Projektes unter der Trägerschaft der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe (FNR) zur Verfügung gestellt. Die niedrig-substituierten Proben sollten in Bezug auf ihrer Aufarbeitung hinsichtlich der Molmasse und deren Verteilung charakterisiert werden. Ein Problem bei der polymeranalytischen Untersuchung ist die schlechte Löslichkeit dieser Proben. Der Autoklavenaufschluß erwies sich in Lösungsuntersuchungen als die geeignetste Methode. Als Fraktionierungsmethode für dieses System stellte sich lediglich die aFFFF als geeignet heraus. Trotz starker Streuungen der Signale ließen sich die Proben mit guter Reproduzierbarkeit der Ergebnisse vermessen. Hierbei zeigte sich, daß die Proben alle einen Anteil mit relativ geringer Molmasse und einen hochmolekularen Bestandteil enthielten. Die gefundenen gewichtsmittleren Molmassen  $M_w$  lagen zwischen 700.000 bis 6,7 Mio. g/mol für den ersten Peak bzw. 1,3 – 21 Mio. g/mol für den zweiten Peak. Die Messungen zeigten, daß die mittels Luft/Extruder getrockneten Proben insgesamt die kleinsten Molmassen aufweisen. Eine Unterscheidung zwischen Walze und Luft getrockneten Proben ist anhand des vorliegenden Probensatzes nicht zu erkennen.

Viskosimetrische Untersuchungen an diesen Systemen ergaben bei relativ kleinen Staudinger-Indices einen Trend im Verhalten nach der jeweiligen Trocknungsmethode. Hierbei zeigten die Luft-getrockneten Proben das schlechteste Verhalten hinsichtlich der Reproduzierbarkeit, gefolgt von den Luft/Extruder getrockneten. Die über Walze getrockneten Proben zeigten das einheitlichste Verhalten.

Bei der Erstellung der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen wurde deutlich, daß es, um gültige, vergleichende Aussagen über die jeweiligen Systeme machen zu können, auf ähnliche Ausgangsmaterialien und substituierte Proben ankommt. Die Herkunft der Naturstoffe hat auf ihr Löslichkeitsverhalten entscheidenden Einfluß. Anhand der ausgewählten Polysaccharide konnte gezeigt werden, daß es möglich ist, für das Einzelmolekül Struktur-Eigenschafts-Beziehungen aufstellen, wobei dies in Abhängigkeit von den jeweiligen System oftmals mit großem Aufwand verbunden ist.



## Summary

Nowadays materials based on natural renewal are gaining more and more importance due to their biodegradability, their environmental digestibility and their physiological compatibility. Especially polysaccharides like starch and cellulose are of major economical importance in chemical industry.

In order to obtain the necessary properties for the utilisation of these biopolymers, an accurate characterization is necessary. The molar mass and radius of gyration and their distributions influence the properties of those polymers in solution. For the polymer analytical characterization these parameters can be determined with different analytical methods as size exclusion chromatography (SEC) or field-flow fractionation (FFF) each coupled with multi angle laser light scattering (MALLS) and a refractive index (RI) detector. The investigation of water soluble biopolymers often is difficult due to e.g. the non uniform behaviour of the same substances of different origin. The knowledge about molar mass distributions and radii of gyration is insufficient or not at all known.

Aim of this thesis was to characterize water soluble polysaccharides in respect of their molar mass und radius of gyration and the distributions of these parameters. Structure-property-relationships offer the possibility to describe the connection between the molecular parameters and the macroscopic properties of these polymers. The  $R_G$ - $M$ -relationship and the  $[\eta]$ - $M$ -relationship, representing the most important structure-property-relationships, establish a correlation between the radius of gyration  $R_G$  and the intrinsic viscosity  $[\eta]$  and the molar mass  $M$  of the macromolecule. To determine these parameters hyphenated techniques of a fractionation unit like size exclusion chromatography, the symmetrical flow field-flow fractionation (sFFFF) or asymmetrical flow field-flow fractionation (aFFFF) combined with multi angle laser light scattering (MALLS) and a refractive index (RI) detector were used. Besides investigations of glucans and guar gum the main emphasis of this work was laid on the characterization of starch and its derivatives.

First six non ionic barley glucans as well as an anionic carboxymethylated  $\beta$ -D-glucan were characterized. Light scattering examinations of the barley glucans gave as a result the viscosity by means of the manufacturer characterises the samples, is strongly influenced by molecules of the high molar mass fraction which is present only in low concentrations

within the sample. The characteristics of the solution of barley glucan varies in dependence of its molar mass. Barley glucan with high molar mass ( $M_w = 304,000$  g/mol) is free of aggregates/associates whereas low molar mass barely glucan ( $M_w = 150,000$  respectively  $230,000$  g/mol) tends to form aggregates. This conclusion can be drawn from the exponents  $\nu$  of the  $R_G$ - $M$ -relationship which show values of 0.51 and 0.31 respectively. The determination of the molar mass distribution using SEC/MALLS/RI measurements, for the first time, allows to investigate barley glucans by means of rheo-optical methods. Comparison of the fractionation of low molar barley glucans at different column temperatures confirmed the thermo reversibility of the aggregation, which was also determined by rheo-optic measurements. The carboxymethylated  $\beta$ -D-glucan is totally molecular disperse and this system leads to efficient  $R_G$ - $M$ -relationships of  $R_G = 0,025 \cdot M^{0.58}$ .

The guar gums, that with their short side chains possess a structure in between linear and branched molecules, were used for comparative investigations between glucans and starch derivates. So far no structure-property-relationships are known for guar gums, which are used in food and cosmetic industry. The SEC/MALLS/RI measurements showed that the low molar massed guar gum ( $M_w = 74,000$  g/mol) has a solution behaviour of branched molecules whereas the high molar mass molecules ( $M_w = 1.900.000$  g/mol) has a solution behaviour as linear ones. The samples give, depending on their molar mass, structure-property-relationships of  $R_G = 0.352 \cdot M^{0.37}$  for the low molar mass sample and  $R_G = 0.069 \cdot M^{0.52}$  for the high molar mass sample.

Waxy maize starches (WMS) with portions of more than 99 % of the branched amylopectin are the starting substances for the pharmacologically used starch derivatives. In co-operation with the group of Prof. Dr. T. Heinze, University of Jena/Wuppertal, mostly in position 2 substituted acetyl starches should be synthesised. These 2-*O*-acetyl starch derivatives, which might be used as blood volume expanders, were to be examined in respect of their storage behaviour. The native WMS had to be degraded to molar masses between 100,000 – 500,000 g/mol. Therefore both ultra sonic degradation and enzymatic degradation are applicable. With increasing degradation time ultra sonic degradation leads to a bimodality in the light scattering signal. Enzymatic degradation also led to the formation of oligo- and monomers and therefore the degraded samples had to be subjected to an elaborate workup procedure. Nevertheless this method allowed to generate huge

amounts of substance. An examination of the storage behaviour of two samples with molar masses of 414,000 and 221,000 g/mol respectively showed a continuous degradation of the molar mass up to the 81st day of storage in solution. The molar mass decreased to a value of 40 % ( $M_w = 172,000$  respectively 85,000 g/mol) compared to the initial value. After that day all samples had an increase in the molar mass which can only be explained by the formation of aggregates. The molar mass of the higher molar sample increased from 172,000 g/mol after 74 days of storage to 216,000 g/mol, the low molar massed sample had a molar mass of 297,000 g/mol after 81 days of storage. This is 134 % of the initial molar mass.

Hydroxyl ethyl starch (HES) nowadays is used as blood volume expander to a big extent. The molar mass and its distribution have crucial influence on the behaviour of these macromolecules. On one hand the pharmaco kinetics are regulated by the molar mass distribution, on the other hand the low and high molecular weight portions lead to undesired side effects.

For this work both commercial samples and samples obtained, via continuous polymer fractionation (CPF) in co-operation with the group of Prof. Dr. B. A. Wolf, University of Mainz, were examined.

Comparative investigations of different fractionation methods using one HES sample show good accordance in the weight average molar masses  $M_w$ . SEC/MALLS/RI measurements gave a value of  $M_w = 198,000$  g/mol whereas sFFFF/MALLS/RI measurements gave  $M_w = 207,000$  g/mol. However, by using sFFFF/MALLS/RI the low molar mass portions of this sample cannot be properly measured. This might be due to worse separation mainly of the low molar mass portions and also due to slug out of the channel through the membrane.

The various commercial samples showed different storage behaviour. The sample with a slightly lower molar mass (170,000 g/mol) was stable with respect to storage in solution. The higher molar mass of the other sample decreased from 198,000 g/mol down to 81.5 % ( $M_w = 162,000$  g/mol) of its initial value within 108 days of storage.

The examination of three HES samples fractionated with CPF in the group of Prof. Dr. B. A. Wolf, University of Mainz, showed that this method is particularly suitable for the removal of low molar mass portions. The structure-property-relationship for all samples

has an exponent  $\nu$  with a value smaller than 0.5, which is typical of branched molecules. The material specific constant  $k_{RG}$  agrees in respect of its exponent but not in respect of the precise value. This result as well as the conversion from the measured  $R_G$ - $M$ -relationship into the also to determine  $[\eta]$ - $M$ -relationship underlines the lack of a suitable theory for branched molecules. Conversion between structure-property-relationships on the basis of valid theories allows to estimate the properties of the molecules in solution in a simple but complete way.

Acetyl starch (AS) nowadays is discussed as an alternative blood volume expander to HES. Contrary to HES AS can be completely metabolised and it has the same positive properties which made HES successful. Nevertheless, the poor storage behaviour of AS is a problem. The substitution patterns of conventionally synthesised AS differ from that of HES. HES is mainly substituted in position 2 whereas AS is mainly substituted in position 3. AS mainly substituted in position 2 was synthesised from the degraded waxy maize starch by the group of Prof. Dr. T. Heinze, University of Jena/Wuppertal. This 2-O-acetyl starch was to be examined in respect to its storage behaviour.

The investigations gave the result that storage behaviour depends on the molar mass. Samples with higher molar masses (709,000 respectively 517,000 g/mol) decreased exponentially in their molar mass during the time of storage. After 107 days of storage decrease the molar mass to 72.2 % ( $M_w = 512,000$  g/mol) respectively to 76.2 % ( $M_w = 394,000$  g/mol). The samples with lower molar masses (260,00 and 151,000 g/mol) however are stable in solution.

Finally the derivative hydroxy propyl starch (HPS), which for example is used as cast films, was characterized. These samples were provided by the "Fraunhofer Insitut für Polymerforschung", Golm, within a project of the "Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe (FNR)". These low substituted samples were to be investigated in respect of their molar mass and molar mass distribution. A problem during the investigations was the poor solubility of this samples. Examinations in respect of their solution behaviour showed that autoclave pulping was the best and most effective method to dissolve those samples. This system could only be fractionated by aFFFF. In spite of high scattering of the signals these samples could be measured with good reproducibility. All samples had one portion with relatively low molar mass as well as one with high molar masses. The

weight average molar masses  $M_w$  ranged from 700,000 up to 6.7 million g/mol for the one peak and between 1.3 up to 21 million g/mol for the second. The measurements showed that the air/extruder dried samples had the lowest molar masses. There was no recognisable difference between roller and air dried samples.

Viscosimetric investigations showed a very low intrinsic viscosity  $[\eta]$  for this system. Nevertheless there was a recognisable trend in the behaviour due to the drying process. The reproducibility of the data obtained from the air dried samples was the worst followed by the air/extruder dried samples. The roller dried samples had the best reproducibility of the different solutions.

The structure-property-relationships gained from the measurements made clear that the starting materials and the substitution pattern has an enormous influence on valid, comparable statements regarding the individual system. The origin of the natural products also has a significant influence on the solubility characteristics. On basis of the selected polysaccharides it was possible to determine structure-property-relationships. Depending on the studied systems this often is connected with great efforts.



## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Polysaccharide .....</b>	<b>9</b>
2.1	Glucane .....	12
2.2	Guarkernmehl.....	15
2.3	Stärke .....	16
2.4	Stärke-Derivate .....	22
2.4.1	Hydroxyethylstärke .....	24
2.4.2	Acetylstärke.....	26
2.4.3	Hydroxypropylstärke.....	27
<b>3</b>	<b>Blutplasmaersatzmittel .....</b>	<b>29</b>
3.1	Hydroxyethylstärke als Blutplasmaersatzmittel.....	33
3.2	Acetylstärke als alternatives Blutplasmaersatzmittel .....	38
<b>4</b>	<b>Theoretische Grundlagen .....</b>	<b>41</b>
4.1	Molmasse und Molmassenverteilung .....	41
4.2	Lösungsstruktur von Polymeren .....	44
4.3	Viskosimetrie .....	50
4.4	Der zweite Virialkoeffizient .....	53
4.5	Das Brechungsindexinkrement.....	54
4.6	Lichtstreuung .....	57
	Lichtstreuung an kleinen Teilchen (Rayleigh-Streuung) .....	60
	Lichtstreuung an größeren Teilchen (Debye-Streuung).....	64
	Lichtstreuung an großen Teilchen (Mie-Streuung) .....	68
4.7	Fraktionierung .....	69
4.7.1	Größenausschlußchromatographie .....	70
4.7.2	Feld-Fluß Fraktionierung .....	75
	Trennprinzip der symmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung .....	78
	Theorie der symmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung .....	81
	Trennprinzip der asymmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung ....	85
	Theorie der asymmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung.....	86

<b>4.8</b>	<b>Kopplung von Methoden zur Bestimmung der absoluten Molmasse sowie deren Verteilung .....</b>	<b>89</b>
<b>4.9</b>	<b>Ultraschalldegradation .....</b>	<b>93</b>
<b>5</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion .....</b>	<b>95</b>
<b>5.1</b>	<b>Untersuchungen an Glucanen.....</b>	<b>96</b>
	Trockengehaltsbestimmung .....	97
	Bestimmung des Brechungsindexinkrementes.....	98
	Messungen mittels der gekoppelten Anlage SEC/MALLS/RI.....	98
<b>5.2</b>	<b>Untersuchungen an Guarkernmehl .....</b>	<b>111</b>
	Trockengehaltsbestimmung .....	112
	Probenvorbereitungen .....	112
	Bestimmung des Brechungsindexinkrementes.....	112
	Bestimmung des Staudinger-Indices $[\eta]$ .....	112
	Messungen mittels der gekoppelten Anlage SEC/MALLS/RI.....	113
<b>5.3</b>	<b>Untersuchungen an Wachsmaisstärke.....</b>	<b>116</b>
5.3.1	Abbaureihen .....	115
	Ultraschallabbau.....	117
	Enzymatischer Abbau (Abbaureihen) .....	120
5.3.2	Gezielter Abbau.....	127
5.3.3	Brechungsindexinkrementbestimmungen .....	131
5.3.4	Lagerstabilitätsuntersuchungen .....	132
<b>5.4</b>	<b>Untersuchungen an Hydroxyethylstärke.....</b>	<b>146</b>
5.4.1	Untersuchungen an kommerziellen Proben.....	146
	Bestimmung des Brechungsindexinkrementes.....	147
	Bestimmung der Molmasse und deren Verteilung mittels SEC/MALLS/RI.....	147
	Reine Streulichtuntersuchungen.....	149
	sFFFF/MALLS/RI-Messungen .....	150
	Lagerstabilitätsuntersuchungen.....	153
5.4.2	Untersuchungen an mittels CPF getrennten HES.....	169
5.4.2.1	Prinzip der kontinuierlichen Polymerfraktionierung .....	169
5.4.2.2	Untersuchungen an den mittels CPF getrennten HES .....	171
<b>5.5</b>	<b>Untersuchungen an Acetylstärke .....</b>	<b>188</b>
	Bestimmung des Brechungsindexinkrementes.....	190

	Lagerstabilitätsüberprüfung mittels SEC/MALLS/RI-Messungen ....	191
	Lagerstabilität der Probe AS 1/8/00.....	191
	Lagerstabilität der Probe AS 4/8/00.....	202
	Lagerstabilität der Probe AS 16/8/00.....	209
	Lagerstabilität der Probe AS 18/8/00.....	214
	Zusammenfassung.....	217
	Viskosimetrische Messungen.....	223
	NMR-Messungen.....	225
<b>5.6</b>	<b>Untersuchungen an Hydroxypropylstärke.....</b>	<b>233</b>
<b>5.7</b>	<b>Vergleich der Lagerstabilitätsuntersuchungen an Wachsmaisstärke, Hydroxyethylstärke und Acetylstärke.....</b>	<b>247</b>
<b>5.8</b>	<b>Struktur-Eigenschafts-Beziehungen .....</b>	<b>252</b>
5.8.1	Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Glucane .....	252
5.8.2	Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Guarkernmehle.....	254
5.8.3	Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Hydroxyethylstärke-Proben.....	254
5.8.4	Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Acetylstärke-Proben....	255
<b>6</b>	<b>Fazit und Ausblick.....</b>	<b>259</b>
<b>7</b>	<b>Experimenteller Teil.....</b>	<b>263</b>
<b>7.1</b>	<b>Trockengehaltsbestimmungen.....</b>	<b>263</b>
<b>7.2</b>	<b>Lösungsmittel .....</b>	<b>263</b>
7.2.1	Lösungs- und Elutionsmittel .....	263
7.2.2	Deionisiertes Wasser für enzymatischen Abbau und Lagerstabilitätsuntersuchungen.....	263
7.2.3	Deionisiertes Wasser für Ultraschallabbau .....	264
<b>7.3</b>	<b>Probenvorbereitung.....</b>	<b>264</b>
7.3.1	Verdünnungsreihen für die Bestimmung des Brechungsindexinkrementes .....	264
7.3.2	Verdünnungsreihen für Viskositätsmessungen .....	265
7.3.3	Probenvorbereitung für SEC/MALLS/RI-Messungen.....	265
7.3.4	Probenvorbereitung für sFFFF/MALLS/RI-Messungen.....	265
7.3.5	Probenvorbereitung für aFFFF/MALLS/RI-Messungen.....	265
7.3.6	Probenvorbereitung für Lagerstabilitätsversuche.....	266

<b>7.4</b>	<b>Lösen im Autoklaven .....</b>	<b>266</b>
<b>7.5</b>	<b>Ultraschallabbau .....</b>	<b>266</b>
<b>7.6</b>	<b>Enzymatischer Abbau .....</b>	<b>267</b>
<b>7.7</b>	<b>Viskosimetrie .....</b>	<b>269</b>
<b>7.8</b>	<b>Brechungsindexinkrement .....</b>	<b>269</b>
<b>7.9</b>	<b>Lichtstreuung .....</b>	<b>269</b>
<b>7.10</b>	<b>SEC/MALLS/RI-Anlage.....</b>	<b>269</b>
	7.10.1 SEC-Säulen .....	270
	7.10.2 Detektion .....	270
<b>7.11</b>	<b>sFFFF/MALLS/RI-Anlage.....</b>	<b>271</b>
	7.11.1 Der sFFFF-Kanal.....	271
	7.11.2 Detektion .....	272
<b>7.12</b>	<b>aFFFF/MALLS/RI-Anlage.....</b>	<b>272</b>
	7.12.1 aFFFF-Kanal .....	272
	7.12.2 Detektion .....	273
<b>7.13</b>	<b>NMR-Spektroskopie .....</b>	<b>273</b>
<b>7.14</b>	<b>Dialyse .....</b>	<b>274</b>
<b>8</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>275</b>
<b>8.1</b>	<b>Abkürzungen .....</b>	<b>275</b>
<b>8.2</b>	<b>Fehlerbetrachtungen.....</b>	<b>280</b>
<b>8.3</b>	<b>Sicherheitshinweise .....</b>	<b>282</b>
<b>8.4</b>	<b>Aufbau der Anlagen.....</b>	<b>284</b>
<b>8.5</b>	<b>Brechungsindexinkremente .....</b>	<b>286</b>
<b>8.6</b>	<b>Herleitung für <math>M_w</math> und <math>R_{G,z}</math> aus der Lichtstreuung.....</b>	<b>287</b>
<b>8.7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>290</b>

## 1 Einleitung

Die Menschheit hat über Jahrtausende nachwachsende Rohstoffe als Ausgangsmaterialien für die Entwicklung und Herstellung von Werkstoffen eingesetzt. Noch zu Beginn des 20sten Jahrhunderts waren in den heutigen Industrieländern Naturstoffe die wichtigste Quelle zur Herstellung von Gebrauchsgegenständen und technischen Produkten aller Art<sup>1</sup>. Durch den Einsatz von polyolefinischen Kunststoffen wurde in den letzten 150 Jahren eine neue Ausgangssituation geschaffen. Aus dem vergleichsweise leicht zu gewinnenden und billigen Erdöl, das zudem noch in scheinbar unbegrenzten Mengen zur Verfügung stand, wurde eine Vielfalt von Werkstoffen entwickelt, die in vielen Bereichen des alltäglichen Lebens eine Verbesserung bewirkten und auch neue Möglichkeiten eröffneten<sup>2</sup>.

Aber der Einsatz von Kunststoffen, der in den 80er Jahren einen steilen Anstieg hatte, verursacht ein immenses Abfallaufkommen. Der Verbrauch von Kunststoffen in den Industriestaaten liegt jährlich bei ca. 11 Millionen Tonnen. Von den 7 Millionen Tonnen, die in Deutschland eingesetzt werden, machen 1,4 Millionen Tonnen allein Verpackungsmaterial aus, welches nur eine kurze Einsatzdauer hat. In Deutschland steht für diese Abfallmengen kaum noch Deponieraum zur Verfügung<sup>3</sup>.

Ökonomisch und ökologisch umstritten ist auch das Recycling von Kunststoffen, die aus fossilen Rohstoffen hergestellt werden. Eine Alternative zu den fossilen Rohstoffen stellen heutzutage erneut die nachwachsenden Rohstoffe dar. Der Einsatz von biologisch abbaubaren Werkstoffen wird zunehmend gefordert und wird z.B. durch das Kreislaufwirtschaftsgesetz von 1996 noch beschleunigt. Im Mai 1998 trat die Verpackungsordnung in Kraft und Kunststoffe auf Basis von fossilen Rohstoffen werden durch das als „Grüner Punkt“ bezeichnete Recyclingsystem zumindest ansatzweise in einen Stoffkreislauf miteinbezogen. Die Entsorgungskosten von Kunststoffen belaufen sich nach Angaben des Dualen Systems Deutschlands (DSD) auf ca. 1,5 €/kg<sup>3,4</sup>.

---

<sup>1</sup> Bledzki, A. K., Gassan, J., „*Natürliche Verstärkungsfaser für Kunststoffe*“, Spektrum der Wissenschaft, **1996**, 96.

<sup>2</sup> Gesellschaft für Spezialfolienentwicklung mbH, „*Produktmitteilung*“, **1998**.

<sup>3</sup> <http://www.inaro.de/Deutsch/ROHSTOFF/industrie/STAERKE/baw.htm>, „*Kunststoffe und biologisch abbaubare Werkstoffe*“, **2001**.

<sup>4</sup> DSD, Duales System Deutschland. Name der Gesellschaft, die das Wertstoffrecycling betreibt.

Zu den nachwachsenden Rohstoffen werden Öle, Fette, Stärken, Cellulosen und Zucker gezählt<sup>5</sup>, die sich im Gegensatz zu den fossilen Rohstoffen in einem bestimmten überschaubaren Zeitraum erneuern. Durch Nutzung fossiler Rohstoffe und den Raubbau an tropischen Regenwäldern entläßt der Mensch derzeit pro Jahr rund 25 Milliarden Tonnen des Treibhausgases Kohlendioxid in die Atmosphäre: Das ist mehr als ein Viertel der 92 Milliarden Tonnen, die Landpflanzen in der gleichen Zeit durch Photosynthese binden und Tiere sowie Boden-Mikroorganismen durch ihren Stoffwechsel wieder freisetzen<sup>6</sup>.

Nachwachsende Rohstoffe bieten aufgrund der Kohlendioxid-Neutralität und der Möglichkeit zur Verkompostierung gegenüber den fossilen Rohstoffen den Vorteil einer besseren Umweltverträglichkeit. Neben der Problematik der Abfallentsorgung rückt auch immer mehr die Endlichkeit der fossilen Rohstoffe in das Bewußtsein der Menschen. Das geschätzte Erdölvorkommen lag 1992 bei ca. 400 Milliarden Tonnen<sup>7,8</sup>. Auch die Abhängigkeit der westlichen Industrienationen von Erdölimporten, wie sie besonders in der Ölkrise 1973 zum Vorschein trat, erhöht die Nachfrage nach Alternativen zu den fossilen Rohstoffen. Nur etwa drei Prozent erneuerbarer Rohstoffe werden im chemisch - technischen Bereich eingesetzt. Die übrigen 97 Prozent dienen der Nahrungs- und Futtermittelerzeugung<sup>6</sup>. In der deutschen chemischen Industrie werden pro Jahr ca. 22 Millionen Tonnen Rohstoffe eingesetzt. 89 Prozent hiervon fallen auf die fossilen Rohstoffe Erdöl und Erdgas, weitere zwei Prozent sind Kohle. Der Anteil der nachwachsenden Rohstoffe liegt bei 9 Prozent, das entspricht 1,8 Millionen Tonnen<sup>9,10</sup>.

Der Begriff „Nachwachsende Rohstoffe“ wurde erst in den letzten 20 Jahren in Deutschland geprägt<sup>5</sup> und die Definition hierfür lautet: „Nachwachsende Rohstoffe sind land- und forstwirtschaftlich erzeugte Produkte, die einer Verwendung im Nichtnahrungsmittelbereich zugeführt werden.“<sup>11</sup> 1992 kamen dabei im Chemiebereich – wie in **Abbildung 1-1**

---

<sup>5</sup> Mann, S., „*Nachwachsende Rohstoffe*“, Ulmer Verlag Stuttgart, **1998**.

<sup>6</sup> Eggersdorfer, M., „*Perspektiven nachwachsender Rohstoffe in Energiewirtschaft und Chemie*“, Spektrum der Wissenschaft, **1994**, 96.

<sup>7</sup> Eierdanz, H., „*Perspektiven nachwachsender Rohstoffe in der Chemie*“, VCH Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo, **1996**.

<sup>8</sup> Franz, G. (Hrsg.), „*Polysaccharide*“, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona, Budapest, **1991**.

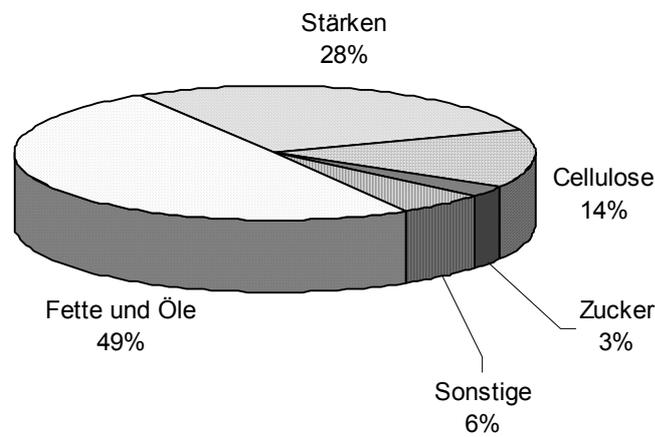
<sup>9</sup> Chemische Industrie, „*Bedeutung nachwachsender Rohstoffe für die Chemie (Stand 1994)*“, [www.chemische-industrie.de](http://www.chemische-industrie.de), **2001**.

<sup>10</sup> VCI, Verband der chemischen Industrie, „*Responsible Care Bericht*“, **1998**.

<sup>11</sup> <http://www.dainet.de/fnr/de/nr/nrstart.htm>, „*Nachwachsende Rohstoffe – alter Hut auf neuen Köpfen*“, **2001**.

dargestellt - folgende Mengen von insgesamt 1,8 Millionen Tonnen an erneuerbaren Rohstoffen zum Einsatz<sup>12,13</sup>:

- 900.000 t Fette und Öle,
- 500.000 t Stärke,
- 250.000 t Cellulose,
- 100.000 t Sonstige und
- 50.000 t Zucker.



*Abbildung 1-1 Verbrauch an einzelnen nachwachsenden Rohstoffen der chemischen Industrie in Deutschland im Jahr 1992 nach Angaben des VCI 1997.*

Mit steigender Nachfrage an nachwachsenden Rohstoffen zur Deckung des Bedarfs in der Industrie wird an die Landwirtschaft eine Herausforderung gestellt. Damit die nachwachsenden Rohstoffe einen höheren Stellenwert im Vergleich zu den fossilen Rohstoffen in der chemischen Industrie einnehmen, ist eine gleichbleibende Qualität und ganzjährige Verfügbarkeit notwendig. Im Jahr 2000 wurden in Deutschland auf einer Anbaufläche von 685.000 ha nachwachsende Rohstoffe angebaut. Diese Fläche entspricht in ca. vier Prozent der insgesamt 17.100.000 ha landwirtschaftlich genutzten Ackerfläche<sup>14,15</sup>. Dabei läßt sich der Anbau nachwachsender Rohstoffe als Alternative zur Nahrungsmittelpro-

---

<sup>12</sup> <http://www.inaro.de/Deutsch/ROHSTOFF/Chemie.htm>, „Chemische Industrie in Deutschland deckt Rohstoffbedarf zu neun Prozent aus nachwachsenden Rohstoffen“, 2001.

<sup>13</sup> VCI, Verband der chemischen Industrie, „Umweltbericht“, 1997.

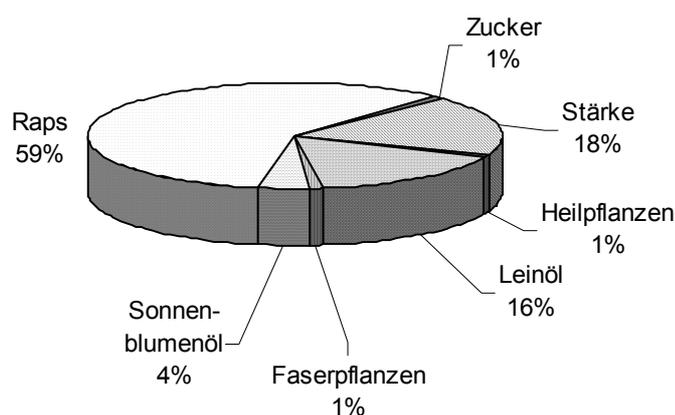
<sup>14</sup> <http://www.inaro.de/Deutsch/Rahmenbe/statisti.htm>, „Statistik“, 2001.

<sup>15</sup> Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, [www.verbraucherministerium.de](http://www.verbraucherministerium.de), 2000.

duktion ansehen. Schon heute gibt es aufgrund eines Überschusses an Nahrungsmitteln für die Landwirte Stilllegungsprämien. Auf stillgelegten Flächen dürfen nachwachsende Rohstoffe ohne Verlust der Stilllegungsprämie angebaut werden<sup>16</sup>. **Tabelle 1-1** zeigt die Größe der Anbauflächen für nachwachsende Rohstoffe in Deutschland in den vergangenen acht Jahren. Die Anteile der einzelnen Rohstoffe an der Gesamtanbaufläche der nachwachsenden Rohstoffe in Deutschland im Jahr 2000 ist **Abbildung 1-2** zu entnehmen<sup>17</sup>.

*Tabelle 1-1 Anbauflächen nachwachsender Rohstoffe in Deutschland 1993-2000 nach Rohstoffen.*

	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Rohstoff	Anbau in 1000 ha							
Stärke	107	116	126	123	123	125	125	125
Zucker	6	9	8	8	7	7	7	7
Raps	125	193	336	237	187	224	370	410
Leinöl	31	31	57	87	96	110	200	108
Sonnenblumenöl	11	14	30	30	23	24	28	25
Faserpflanzen	1	2	3	6	4	4	4	4
Heilstoffe	3	3	4	5	5	5	5	5
Sonstiges	2	8	7	1	1	0	1	1



*Abbildung 1-2 Anteile der einzelnen Rohstoffe an der Gesamtfläche der nachwachsenden Rohstoffe in Deutschland im Jahr 2000.*

<sup>16</sup> Vorweg, W., „Überblick zum Forschungsverbund „Modifizierte Stärken“ der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V.“, **1998**.

<sup>17</sup> <http://www.inaro.de/Deutschland/ROHSTOFF/roheuro.htm>, „Anbau nachwachsender Rohstoffe in Deutschland“, **2001**.

Für das Jahr 2000 wurden folgende Mengen an in Deutschland erzeugten nachwachsenden Rohstoffen geschätzt<sup>18</sup>:

- Stärke: 900.000 – 1.700.000 t,
- pflanzliche Öle: 275.000 – 610.000 t,
- Zucker: 60.000 – 100.000 t,
- Pflanzenfasern: 40.000 – 60.000 t,
- Festbrennstoffe zur Wärme- und Stromerzeugung: 15 Mio. – 36 Mio. t.

Die Förderung und Entwicklung der nachwachsenden Rohstoffe ist seit 1993 das Ziel der „Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V.“. Sie hat 1997 bekannt gemacht, daß sie unter dem Schwerpunkt „Modifizierte Stärken“ eine begrenzte Anzahl von Projekten fördern wird<sup>19</sup>.

Bei der Verarbeitung von natürlichen Biopolymeren ist zu beachten, daß die Art der produzierenden Pflanze sowie Standort und die jährlichen Wetterverhältnisse eine Rolle auf die Qualität des Rohstoffes haben. So kann Stärke z.B. aus verschiedenen Pflanzen wie Kartoffel, Mais, Getreide u.a. gewonnen werden.

Für den Einsatz der Biopolymere ist daher eine aufwendige Charakterisierung nötig, damit das Eigenschaftsprofil genau den Bedürfnissen entsprechend eingestellt werden kann. Im Vergleich zu niedermolekularen Stoffen und im Gegensatz zu wenigen speziellen Biopolymeren, wie etwa Proteinen, Enzymen und DNA (Desoxyribonucleinsäure), haben Makromoleküle keine einheitliche Molmasse. Es liegen vielmehr verschieden breite Molmassenverteilungen vor. Die Breite und Form dieser Verteilungen ist u.a. abhängig von den Synthese- und Aufarbeitungsbedingungen. Um eine Korrelation zwischen den chemischen Strukturparametern - wie z.B. der Molmasse sowie deren Verteilung und der Teilchengröße, dem Substitutionsmuster und dem Staudinger-Index - und den Eigenschaften - wie dem Fließverhalten, der verdickenden Wirkung oder der Flockungseffektivität - herzustellen, ist eine umfangreiche Analytik notwendig. Hierzu werden verschiedene Analysemethoden eingesetzt, als Beispiel seien die Größenausschlußchromatographie, Feld-Fluß Fraktionierung, Vielwinkellichtstreuung und NMR-Spektroskopie

---

<sup>18</sup> Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, (Hrsg.) „*Nachwachsende Rohstoffe*“, Konzept der Bundesregierung zur Förderung von Forschungs-, Entwicklungs- und Demonstrationsvorhaben 1996 – 2000, Mitteldeutsche Druckanstalt Heidenau GmbH, 1996.

<sup>19</sup> Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V., „*Fachinformationen für die Presse*“, 1998.

genannt. Die Molmasse eines Polymers beeinflusst die elastischen und viskosen Eigenschaften<sup>20</sup>, die z.B. bei der Anwendung als Verdicker eine Rolle spielen.

Biopolymere können aufgrund der großen Bandbreite chemischer Strukturen und Polymerzusammensetzungen sehr unterschiedliche Eigenschaftsprofile aufweisen. Ihre nutzbaren Eigenschaften wie Wasserbindevermögen, Strukturviskosität, Film- und Komplexbildung und Oberflächenaktivität machen sie für eine große Vielfalt von technischen Anwendungsgebieten nutzbar<sup>21</sup>. Darüber hinaus zeigen viele Biopolymere aufgrund ihrer physiologischen Unbedenklichkeit<sup>22</sup> eine gute Haut- und Schleimhautverträglichkeit und finden deshalb einen großen Einsatz in der Pharma-<sup>23</sup>, Kosmetik-<sup>24</sup>, und Nahrungsmittelproduktion<sup>25,26</sup>. Wirtschaftlich nehmen Polysaccharide wie Stärke und Cellulose in der chemischen Industrie die bedeutendste Stellung ein. Wasserlösliche bzw. wasserdispergierbare Polymere stellen den am schnellsten wachsenden Bereich der industriellen Forschung dar<sup>27</sup>. Wasserlösliche Polymere sind in der pharmazeutischen Technologie als Gelbildner, Verdickungsmittel, Salbengrundlage, Filmüberzüge usw. weit verbreitet<sup>28</sup>.

Bei den wichtigsten Polysacchariden - der Stärke und Cellulose - findet oftmals eine chemische Modifizierung zu Estern oder Ethern statt, um die Wasserlöslichkeit zu erreichen oder zu verbessern, da die nativen Makromoleküle oftmals unlöslich sind. Die Derivate dieser Biopolymere werden beispielsweise in der Kosmetik-, Pharma-, Nahrungsmittel-, Getränke-, Farben-, Bau-, Papier-, Kabel- und Textilindustrie sowie im Bergbau und der Erdölförderung eingesetzt. Dort übernehmen sie Funktionen als Verdickungsmittel, Emulgatoren, Fließverbesserer, Stabilisierungsmittel, Verbinder, Flockungshilfsmittel, Kleber, Anstriche oder als Film zur Veredelung von Oberflächen.

---

<sup>20</sup> Kulicke, W.-M. (Hrsg.), „*Fließverhalten von Stoffen und Stoffgemischen*“, Hüthig und Wepf, Heidelberg, **1986**.

<sup>21</sup> Greenway, T. M., in „*Cellulosic polymers*“, Gilbert R.D. (Hrsg.) Carl Hanser Verlag München **1994**.

<sup>22</sup> Shelanski, H. A., Clark, A. M., „*Physiological action of sodium carboxymethylcellulose on laboratory animals and human subjects*“, Food Res. *13*, **1948**, 29.

<sup>23</sup> Kern, W., „*Methyl- and carboxymethyl-cellulose in the gastrointestinal tract*“, Pharm. Ind. *21*, **1959**, 45.

<sup>24</sup> Domsch, A., „*Die kosmetischen Präparate*“, Verlag für chem. Industrie, Augsburg **1992**.

<sup>25</sup> Pomeranz, Y., „*Functional properties of food components*“, Academic Press, San Diego **1991**.

<sup>26</sup> Belitz, H.-D. Grosch, W., „*Lehrbuch der Lebensmittelchemie*“, Berlin **1992**.

<sup>27</sup> Twenty-Eighth Annual International Waterborne, High-Solids, and Power Coatings Symposium, New Orleans, Louisiana, February 21-23, **2001**.

<sup>28</sup> Willmes, A., „*Hydrophile Polymere: Entwicklung zielt auf Funktionsvielfalt*“, Chemische Rundschau *13*, **1998**, 11.

Eine etablierte Methode zur Bestimmung der absoluten Molmasse und deren Verteilung ist die Kopplung der Größenausschlußchromatographie (size exclusion chromatography, SEC) mit der Vielwinkellichtstreuung (multi angle laser light scattering, MALLS) und einem Konzentrationsdetektor (refractive increment, RI)<sup>29,30,31</sup>. Doch besonders die Fraktioniermethode der Größenausschlußchromatographie trifft in der Praxis häufig an ihre Grenzen, da es u.a. zu Wechselwirkungen zwischen Säulenmaterial und Probe kommen kann. Der Einsatz der symmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung (sFFFF) hat sich als ergänzende Methode zur Größenausschlußchromatographie bewährt<sup>32,33,34,35</sup>. Bei Verwendung dieser Technik kommt man ohne eine stationäre Phase aus, die Trennung wird aufgrund des unterschiedlichen Diffusionsverhaltens verschieden großer Teilchen bewirkt.

Die asymmetrische Bauweise des Gerätes der Fluß Feld-Fluß Fraktionierung (aFFFF) stellt eine Weiterentwicklung der symmetrischen Fraktioniereinheit dar<sup>36,37</sup>. Diese Trennverfahren gekoppelt mit der Vielwinkellichtstreuung stellen bedeutende Methoden zur Charakterisierung der Lösungsstrukturen von Polymeren dar<sup>38,39</sup>.

---

<sup>29</sup> Johann, C., Labor Praxis, Dezember **1989**.

<sup>30</sup> Jackson, C., Nielson, L. M., Wyatt, P. J., „*Characterization of Biopolymers Using a Multi-Angle Light Scattering Detector with Size Exclusion Chromatography*“, J. Appl. Polym. Sci. Appl. Polym. Symp. **43**, **1989**, 99.

<sup>31</sup> Wintermantel, M., Schmidt, M., Becker, A., Dorn, R., Kühn, A., Lösch, R., „*Structure determination of macromolecules with the gel-permeation chromatography*“, Nachr. Chem. Tech. Lab. **40** (3), **1992**, 331.

<sup>32</sup> Roessner, D., Kulicke, W.-M., „*On-Line Coupling of Flow Field-Flow Fractionation and Multi-Angle Laser Light Scattering*“, J. Chromatogr. A. **687**, **1994**, 249.

<sup>33</sup> Thielking, H., Adolphi, U., Kulicke, W.-M., „*Transverse fractionation coupled with light scattering*“, Nachr. Chem. Tech. Lab. **44** (4), **1996**, 370.

<sup>34</sup> Kulicke, W.-M., Lange, S., Heins, D., „*Advantages of Determining the Molar Mass Distribution of water-soluble Polymers and Polyelectrolytes with FFFF/MALLS and SEC/MALLS*“, in: „*Chromatography of Polymers, Hyphenated and Multidimensional Techniques*“, Provder, T. (Hrsg.), ACS Symposium Series **731**, Washington, USA, **1999**.

<sup>35</sup> Adolphi, U., „*Untersuchungen der Lösungsstruktur wasserlöslicher Polysaccharide mittels kombinierter Querflußfraktionierung und Lichtstreuung*“, Dissertation Universität Hamburg, **1996**.

<sup>36</sup> Wahlund, K.-G., Giddings, J. C., „*Properties of an Asymmetric Flow Field-Flow Fractionation Channel Having One Permeable Wall*“, Anal. Chem. **59**, **1987**, 1332.

<sup>37</sup> Wahlund, K.-G., Litzén, A., „*Application of an Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation Channel to the Separation and Characterization of Proteins, Plasmids, Plasmid Fragments, Polysaccharides and Unicellular Algae*“, J. Chromatogr. **461**, **1989**, 73.

<sup>38</sup> Wittgren, B., Wahlund, K.-G., „*Fast molecular mass and size characterization of polysaccharides using asymmetrical flow field-flow fractionation-multiangle light scattering*“, J. Chrom. A **760**, **1997**, 205.

<sup>39</sup> Wittgren, B., Borgstrim, J., Piculell, L., Wahlund, K.-G., „*Conformational change and aggregation of  $\kappa$ -carrageenan studies by flow field-flow fractionation and multiangle light scattering*“, Biopolymers **45**, **1998**, 85.

Polysaccharide, die aus Glucoseeinheiten aufgebaut sind, werden allgemein als Glucane bezeichnet. Hydroxyethylstärken und Dextrane zeigen physiologische Wirkung: Aufgrund des hohen osmotischen Drucks werden sie als Blutplasmaexpander eingesetzt.

Im Verlauf der Arbeit wurden verschiedene Glucane sowie Guarkernmehl untersucht. Für jedes Polysaccharid mußte die geeignet Fraktioniermethode gefunden werden, damit eine vollständige Charakterisierung der Moleküle gegeben ist und Struktur-Eigenschafts-Beziehungen aufgestellt werden können. Der Schwerpunkt der Arbeit lag im Bereich der Stärkederivate Hydroxyethyl- und Acetylstärke. Hydroxyethylstärke wird als Blutplasmaersatzmittel eingesetzt. Besonders die Uneinheitlichkeit der Molmassenverteilungen bereiten hier Schwierigkeiten. Zu kleine Moleküle werden durch den Organismus zu schnell ausgeschieden, so daß die Volumeneffektivität nicht gegeben ist. Diese Fraktion wird bisher mittels aufwendiger Membranverfahren abgetrennt. Hochmolekulare Anteile hingegen stehen im Verdacht, langanhaltenden Juckreiz auszulösen. In Zusammenarbeit mit der Universität Mainz, Arbeitskreis Prof. Dr. Wolf, sollte die Wirksamkeit der kontinuierlichen Polymerfraktionierung überprüft werden. Acetylstärke stellt eine Alternative im Einsatz zu Hydroxyethylstärke als Blutplasmaersatzmittel dar. Normal substituierte Acetylstärke ist jedoch nicht lagerstabil. Im Zusammenarbeit mit der Universität Jena, Arbeitskreis Prof. Th. Heinze, sollte eine nur in 2-Position substituierte Acetylstärke hinsichtlich ihres Lagerverhaltens bezüglich der Molmasse untersucht werden. Des weiteren sollten Hydroxypropylstärken, die als Gießfolien Einsatz finden sollen, eingehend charakterisiert werden.

## 2 Polysaccharide

Polysaccharide kommen in der gesamten Tier- und Pflanzenwelt vor. Bei dem Begriff Polysaccharide handelt es sich um eine Sammelbezeichnung für makromolekulare Kohlenhydrate, aufgebaut aus glykosidisch miteinander verknüpften Monosaccharid-Einheiten<sup>1</sup>.

Man unterscheidet zum einen nach Homo- und Heteropolysacchariden, wobei die Homopolysaccharide aus einem und die Heteropolysaccharide aus mehreren unterschiedlichen Monosaccharidtypen zusammengesetzt sind. Nach der Struktur der Monomereinheiten unterscheidet man weiterhin nach z.B. Glucanen, Mannanen, Galactanen, Arabinoxylanen und Glucomannanen. Je nach Verknüpfungsart können Polysaccharide sowohl unverzweigt als auch verzweigt sein. Verzweigte Polysaccharide sind entweder kammartig oder baumartig<sup>2</sup> (**Abbildung 2-1**).

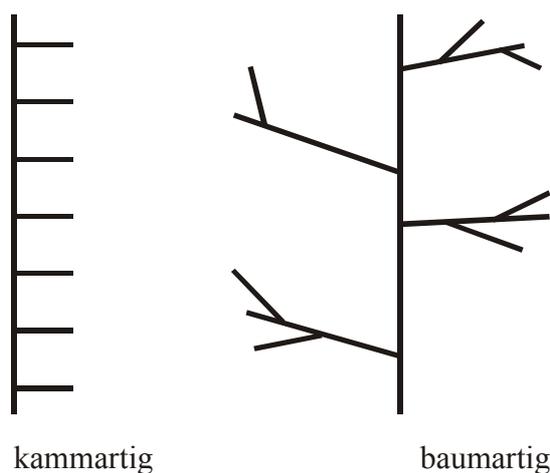


Abbildung 2-1 Verzweigungstypen bei Polysacchariden: a) kammartig, b) baumartig.

Die wichtigsten Monomer-Einheiten der Polysaccharide sind die Hexosen D-Glucose, D-Mannose, D- und L-Galactose und D-Fructose, sowie die Pentosen L-Arabinose und D-Xylose. Die stickstoffhaltigen Aminozucker D-Glucosamin und D-Galactonsamin sind in tierischen Polysacchariden enthalten<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Römpp Chemie Lexikon, Version 2.00, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1995**.

<sup>2</sup> Jakubke, H.-D., Jeschkeit, H. (Hrsg.), Brockhaus Chemie, Bd.2, 5.Aufl., VEB F. A. Brockhaus Verlag, Leipzig, **1987**.

<sup>3</sup> Franz, G. (Hrsg.), „Polysaccharide“, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona, Budapest, **1991**.

Ein weiteres Unterscheidungskriterium für Polysaccharide ist ihre Funktion. Hier wird in Reserve- und Gerüstpolysaccharide eingeteilt. So geben faserförmige Strukturpolymere wie z.B. Cellulose, Chitin und Algin den Zellen von Pflanzen und Insekten sowohl Festigkeit als auch Elastizität. Reservopolysaccharide wie Stärke, Glycogen und Galactomannan sind Energielieferanten für die Zellen. Des weiteren treten Polysaccharide z.B. als Xanthan, Dextran oder Pullulan als Stoffwechselprodukte bei Bakterien und Pilzen auf.

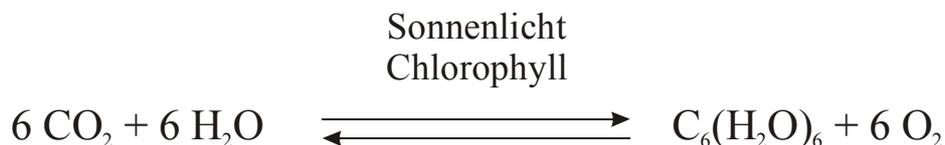
Die Struktur von Polysacchariden wird maßgeblich durch die Art der glykosidischen Bindung beeinflusst. Trotz ähnlicher oder gar gleicher Monomer-Einheiten gibt es eine große Vielfalt an möglichen Strukturen. Dies liegt daran, daß am anomeren C-1 Atom sowohl eine  $\alpha$ - als auch  $\beta$ -Verknüpfung eingegangen werden kann. Zum anderen sind Verknüpfungen an verschiedenen Positionen (1,3-, 1,4- oder 1,6-Bindung) möglich. **Abbildung 2-2** zeigt  $\alpha$ - und  $\beta$ -Verknüpfungen von 1,4-Poly-(D-Glucopyranose).



*Abbildung 2-2 Monomerbaustein von Poly-(D-Glucopyranose), die zwei möglichen 1,4-Verknüpfungen  $\alpha$  und  $\beta$  sind hier angedeutet.*

In **Tabelle 2-1** sind die wichtigsten Polysaccharide mit den entsprechenden Monomer-Einheiten sowie deren Verknüpfung angegeben.

Die Kohlendioxid-Neutralität der Polysaccharide zeigt sich in der Summenformel zum Aufbau der Monomereinheiten. Als Beispiel ist Glucose gewählt, welche in der Natur hauptsächlich mittels Photosynthese gebildet wird:



Grüne Pflanzen wandeln mit Hilfe der Energie des Sonnenlichts, welches vom Chlorophyll absorbiert wird, Kohlendioxid und Wasser in Sauerstoff und Glucose um<sup>4</sup>.

<sup>4</sup> Vollhard, K. P. C., „Organische Chemie“, VCH Weinheim, 1990, 1065.

Polysaccharide

Tabelle 2-1 Zusammenstellung wichtiger Polysaccharide

Poly-saccharid	Monomer-Einheiten	Verknüpfung	Struktur	Molmasse	Vorkommen
Amylopektin	D-Glucose	$\alpha$ -1,4, $\alpha$ -1,6	verzweigt	$3 \cdot 10^5$ – $1 \cdot 10^9$	Stärkebe- stanteil
Amylose	D-Glucose	$\alpha$ -1,4	linear	$5 \cdot 10^4$ – $1 \cdot 10^6$	Stärkebe- stanteil
Cellulose	D-Glucose	$\beta$ -1,4	linear	$3 \cdot 10^4$ – $1,5 \cdot 10^6$	Pflanzen- zellwand
Chitin	N-Acetyl-D-glucosamin	$\beta$ -1,4	linear	$\sim 400.000$	Insekten
Dextran	D-Glucose	$\alpha$ -1,6	verzweigt	$1,5 \cdot 10^4$ – $5 \cdot 10^7$	Bakterien
Glykogen	D-Glucose	$\alpha$ -1,4, $\alpha$ -1,6	verzweigt	bis zu $1,6 \cdot 10^6$	Leber
Guar	D-Galactose, D-Mannose	$\beta$ -1,4, $\alpha$ -1,6	verzweigt	$2,2 \cdot 10^5$ – $2,2 \cdot 10^6$	Samen- schleim
Pektin	D-Galacturon- $\alpha$ - säure	$\alpha$ -1,4	linear	$1 \cdot 10^4$ – $5 \cdot 10^5$	Pflanzen
Pullulan	D-Glucose	$\alpha$ -1,4, $\alpha$ -1,6	linear	$1 \cdot 10^4$ – $1,6 \cdot 10^6$	Pilze
Xanthan	D-Glucose mit Trisaccharidseiten ketten	$\beta$ -1,4	linear	$2 \cdot 10^6$ – $15 \cdot 10^6$	Bakterien

Viele Polysacchride sind in Wasser löslich oder zumindest quellbar; daher werden sie auch häufig als „Hydrokolloide“ bezeichnet. Zusammen mit der Wasserlöslichkeit/-quellbarkeit und aufgrund der vielen unterschiedlichen Strukturen ergeben sich zahlreiche unterschiedliche technische Anwendungen wie z.B. Verdicken, Wasserbindung, Gelieren, Emulgieren und Suspendieren. Die jeweilige Lösungsstruktur hat dabei entscheidenden Einfluß auf die technische Anwendung. So ergeben gestreckte, lineare Moleküle eine hohe Viskositätsergiebigkeit, verknäuelte Moleküle zeigen hingegen eher

elastische Eigenschaften. Durch Derivatisierungen der nativen Polysaccharide kann eine Erweiterung der technischen Anwendungsmöglichkeiten erreicht werden.

## 2.1 Glucane

Allgemein ist die Bezeichnung „Glucan“ ein Sammelbegriff für Polyglycosane<sup>5</sup>.  $\beta$ -D-Glucane kommen in der Natur u.a. in den Zellwänden von Mikroorganismen und Bakterien als Exopolysaccharide und Stützpolymere vor<sup>6</sup>.

Die Substanzklasse der  $\beta$ -Glucane wird in den letzten Jahren verstärkt untersucht, da man ihnen immunstimulierende Wirkungen zuschreibt<sup>7</sup>. Auf den Oberflächen menschlicher Immunzellen befinden sich  $\beta$ -Glucan-Rezeptoren<sup>5</sup>. Dem Gerstenglucan schreibt man z.B. cholesterinsenkende<sup>8</sup> und verdauungsfördernde<sup>9</sup> Wirkung zu. Neben der immunstimulierenden Wirkung weisen Glucane noch zwei weitere bedeutende Anwendungsmöglichkeiten auf. Zum einen können sie als „Bioabsorber“, die unerwünschte Stoffe aller Art binden und somit unschädlich machen, eingesetzt werden. Zum anderen können sie als Träger von Wirkstoffen dienen, welche dann an geeigneter Stelle und zum gewählten Zeitpunkt freigesetzt werden<sup>10</sup>.

In der Zellwand der Gerste kommt ein Homopolymer der Glucose, das  $\beta$ -(1,3)-(1,4)-D-Glucan vor. Die Kette wird zu etwa 30% über eine (1,3)- und zu etwa 70 % über (1,4)-glykosidische Bindung aufgebaut<sup>11,12,13</sup>. Dabei sind die Bindungen so verteilt, daß Blöcke

---

<sup>5</sup> Römpp Chemie Lexikon, Version 2.00, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1995**.

<sup>6</sup> Franz, G., „*Struktur und biologische Funktionen von Polysacchariden*“, in: „Polysaccharide“, Burchard, W., (Hrsg.), 1. Aufl., Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, **1985**, 1.

<sup>7</sup> Bohn, J.A., Bemiller, J. N., „*(1,3)- $\beta$ -D-glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships*“, Carbohydr. Polym. 28, **1995**, 3.

<sup>8</sup> Newman, R. K., Newman, C. W., Graham, H., „*The hypocholesterolemic function of barley  $\beta$ -glucans*“, Cereal Foods World 34, **1989**, 883.

<sup>9</sup> Gohl, B., Gohl, I., „*Effect of viscous substances on transit-time of barley digesta in rats*“, J. Sci. Food Agric. 28, **1977**, 911.

<sup>10</sup> ABAC R&D GmbH, „*ABAC R&D und Glucan*“, <http://www.abac.ch/abacglucand.html>, **2000**.

<sup>11</sup> Woodward, J. R., Phillips, D. R., Fincher, G. B., „*Water-soluble (1,3),(1,4)- $\beta$ -D-glucans from barley (*Hordeum vulgare*) endosperm. I. Physicochemical properties*“, Carbohydr. Polym. 3, **1983**, 143.

<sup>12</sup> Harris, P. J., Henry, R. J., Blakeney, A.B., Stone, B. A., „*An improved procedure for the methylation analysis of oligosaccharides and polysaccharides*“, Carbohydr. Res. 127, **1984**, 59.

<sup>13</sup> Wood, P. J., Weisz, J., Blackwell, B. A., „*Molecular characterization of cereal  $\beta$ -D-glucans. Structural analysis of oat  $\beta$ -D-glucan and rapid structural evaluation of  $\beta$ -D-glucans from different sources by high performance liquid chromatography of oligosaccharides released by lichenase*“, Cereal Chem. 68, **1991**, 31.

von (1,4)-verknüpften Sequenzen durch einzelne (1,3)-Verknüpfungen statistisch unterbrochen sind<sup>14,15</sup>. Die Struktur des  $\beta$ -(1,3)-(1,4)-D-Glucans ist in **Abbildung 2.1-1** dargestellt. Die celluloseartig aufgebauten Blöcke bestehen meist aus zwei bis drei, in seltenen Fällen auch aus bis zu 14 Glucose-Einheiten<sup>16,17</sup>. Die Unterbrechung der (1,4)-Verbindungen durch (1,3)-Bindungen, welche flexibler sind<sup>18</sup>, verhindert eine kettenübergreifende Assoziation<sup>16</sup>, wie man sie bei reinen (1,3)- oder (1,4)-verknüpften  $\beta$ -D-Glucane findet. Diese im Vergleich zu reinen  $\beta$ -D-Glucanen unregelmäßigere Struktur erhöht die Wasserlöslichkeit der  $\beta$ -(1,3)-(1,4)-Glucane, so daß sie heißwasserlöslich sind<sup>6</sup>. Dennoch neigen diese Glucane wie auch viele andere Polysaccharide zur Gelbildung, die durch Assoziation über Wasserstoffbrückenbindungen der Polymerkettensegmente hervorgerufen wird. Aus diesem Gelbildungsvermögen resultiert die wichtige Funktion der  $\beta$ -Glucane für die Pflanzen: Sie gibt der Zellwand gleichzeitig Festigkeit und Elastizität während des Wachstums und der Keimung<sup>19</sup>.

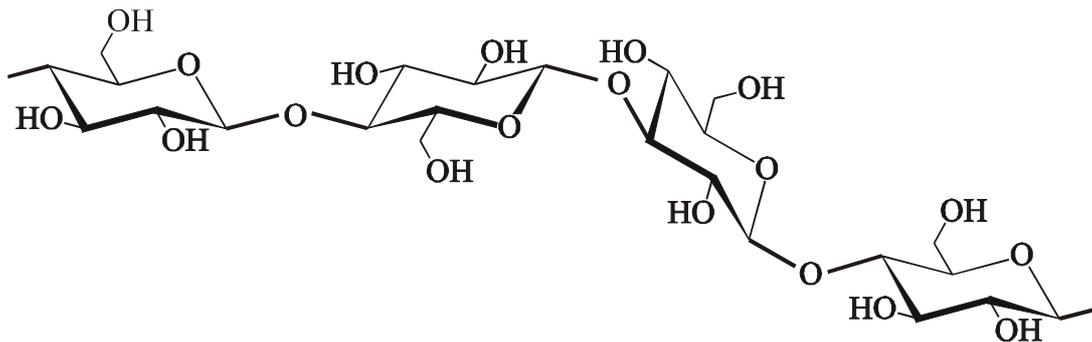


Abbildung 2.1-1 Struktur des  $\beta$ -(1,3)-(1,4)-D-Glucans.

Die Eigenschaft der Gelbildung der Gerstenglucane führt jedoch im Brauprozess zu unerwünschten Trübungen und gelartigen Niederschlägen<sup>20,21</sup>, mit denen eine Reihe von

<sup>14</sup> Henrikson, K., Telemann, A., Suortti, T., Reinikainen, T., Jaskari, J., Telemann, O., Poutanen, K., „Hydrolysis of barley (1,3),(1,4)- $\beta$ -D-glucan by cellobiohydrolase II preparation from *Trichoderma reesei*“, Carbohydr. Polym. 26, **1995**, 109.

<sup>15</sup> Buliga, G. S., Brant, D. A., Fincher, G. B., „The sequence statistics and solution configuration of barley (1,3, 1,4)- $\beta$ -D-glucan“, Carbohydr. Res. 157, **1986**, 139.

<sup>16</sup> Woodward, J. R., Fincher, G. B., Stone, B. A., „Water-soluble (1,3), (1,4)- $\beta$ -D-glucans from barley (*Hordeum vulgare*) endosperm. II. Fine structure“, Carbohydr. Polym. 3, **1983**, 207.

<sup>17</sup> Izawa, M., Kano, Y., Koshino, S., „Relationship between structure and solubility of (1,3),(1,4)- $\beta$ -D-glucan from barley“, J. Am. Soc. Brew. Chem. 51, **1993**, 123.

<sup>18</sup> Sundaralingam, M., „Some aspects of stereochemistry and hydrogen bonding of carbohydrates related to polysaccharide conformations“, Biopolym. 6 (2), **1968**, 189.

<sup>19</sup> Franz, G., „Polysaccharide“, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, **1991**.

<sup>20</sup> Narziß, L., „ $\beta$ -Glucans and beer filterability“, Brauwelt 37, **1992**, 1696.

<sup>21</sup> Caldwell, C.W., „Field-Flow Fractionation“, Analytical Chemistry 60, **1988**, 959.

Problemen verbunden sind. Während des Malzens im Brauprozess wird das in der Zellwand der Gerste enthaltene  $\beta$ -Glucan, welches frei oder an  $\alpha$ -Aminosäure gebunden vorliegt<sup>22,23</sup>, enzymatisch abgebaut<sup>24,25</sup>. Bei unvollständigem Abbau des  $\beta$ -Glucans verbleibt langkettiges  $\beta$ -Glucan im Malz. Damit ist das  $\beta$ -Glucan während des Brauprozesses für zwei nachteilige Effekte verantwortlich:

- die Viskosität wird durch hohe Konzentration an hochmolekularen  $\beta$ -Glucan erhöht, wodurch die Filtration von Würze und Bier erschwert wird<sup>26,27</sup>,
- Trübungen und gelartige Niederschläge können sich während der Lagerung bilden, wodurch die abschließende Filtration des ausgereiften Bieres erheblich behindert wird<sup>20,27</sup>.

Neben dem Gesamtgehalt<sup>28</sup> an  $\beta$ -Glucan werden diese Probleme auch durch die vorliegende Molmasse der  $\beta$ -Glucane erheblich beeinflusst<sup>29,30</sup>, da die Molmasse der Polymere im direkten Zusammenhang mit der Viskosität steht. Andererseits wird der Molmasse und der Größe der  $\beta$ -Glucane im Zusammenhang mit ihrer Viskosität die physiologischen Wirkungen zugeschrieben<sup>31</sup>. Zur Aufklärung des Gelverhaltens ist ebenfalls die Kenntnis der Molmasse, aber auch die der Molmassenverteilung der einzelnen Polymerketten in Lösung nötig.

<sup>22</sup> Bamforth, C. W., „*Barley  $\beta$ -glucans: their role in malting and brewing.*“, *Brewers Digest* 35, **1982**, 22.

<sup>23</sup> Forrest, L. S., Wainwright, T., „*The mode of binding of  $\beta$ -glucans and pentosans in barley endosperm cell walls*“, *J. Inst. Brew.* 83, **1977**, 279.

<sup>24</sup> Woodward, J. R., Fincher, G. B., „*Purification and chemical properties of two 1,3;1,4- $\beta$ -glucan endohydrolases from germinating barley*“, *Eur. J. Biochem.* 121, **1982**, 663.

<sup>25</sup> Scott, R. W., „*Solubility of  $\beta$ -glucan during mashing*“, *J. Inst. Brew.* 78, **1972**, 411.

<sup>26</sup> Bamforth, C. W., „ *$\beta$ -Glucan and  $\beta$ -glucanases in malting and brewing: practical aspects.*“, *Brewers Digest* 59, **1994**, 12.

<sup>27</sup> Bamforth, C. W., „*Barley  $\beta$ -glucans: their role in malting and brewing.*“, *Brewers Digest* 35, **1982**, 22.

<sup>28</sup> Wagner, N., He, G., Krüger, E., „*Significance of  $\beta$ -glucan gels for beer filterability*“, *Brauwelt* 12, **1991**, 426.

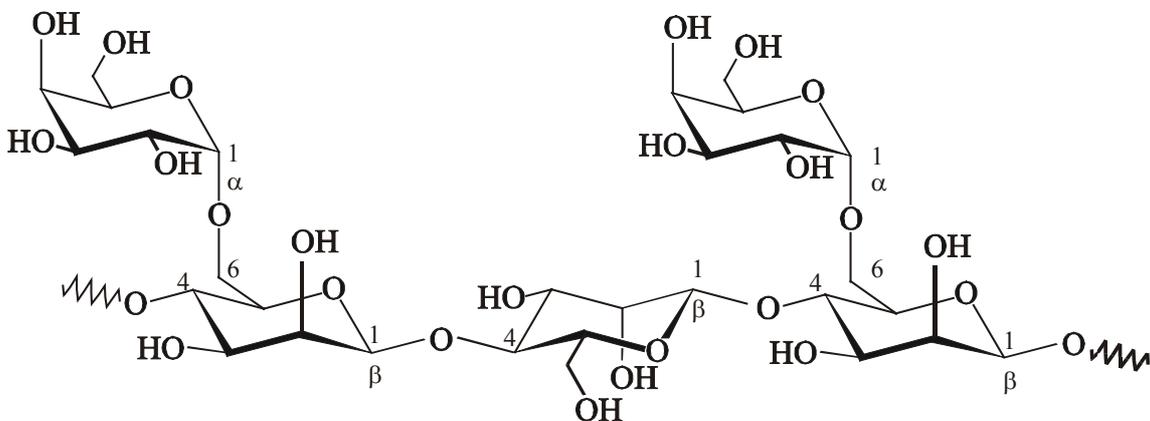
<sup>29</sup> Narziß, L., Reicheneder, E., Edney, M. J., „*Importance of  $\beta$ -glucan size and concentration in malting*“, *Monatsschr. Brauw.* 42 (11), **1989**, 430.

<sup>30</sup> Wagner, N., Esser, K. D., Krüger, E., „*Analysis and significance of high-molecular-weight  $\beta$ -glucan in beer*“, *Monatsschr. Brauw.* 41 (10), **1988**, 384.

<sup>31</sup> Christensen, B. E., Ulset, A. S., Beer, M. U., Knucklesbenny, E., Williams, D. L., Fishman Marshall, L., Chau Hoa, K., Wood, P. J., „*Macromolecular Characterization of Three Barley  $\beta$ -Glucan Standards by Size-Exclusion Chromatography combines with Light Scattering and Viscometry: An Interlaboratory Study*“, *Agricultural Research Service*, <http://www.mal.usda.gov/ttic/tektran/data/000011/28/0000112889.html>, **2000**.

## 2.2 Guarkernmehl

Guarkernmehl wird aus dem Endosperm der Guarbohne (*Cyamopsis tetragonoloba*), einer aus Indien und Pakistan stammenden Hülsenfrucht, gewonnen<sup>32,33,34,35,36,37,38</sup>. Guarkernmehl, auch als Guar an bezeichnet, ist ein Galctomannan aus einer Hauptkette mit linear  $\beta$ -(1,4)-glykosidisch verknüpften Mannose-Einheiten, an die im Mol-Verhältnis von 1 : 2<sup>38</sup> in Position C<sub>6</sub> ein Galactoserest glykosyliert ist<sup>32,33</sup>. Die Galactomannan-Einheiten sind hierbei nicht streng alternierend, sondern in Paaren oder Triplets im Polygalactomannan-Molekül angeordnet<sup>32</sup>. **Abbildung 2.2-1** zeigt einen Ausschnitt aus der Polygalactomannan-Kette.



*Abbildung 2.2-1 Ausschnitt aus der Polygalactomannan-Kette. Die lineare Kette wird aus  $\beta$ -(1,4)-verknüpften Mannosen aufgebaut, wobei statistisch jede zweite Mannose an Position 6  $\alpha$ -(1,6) mit einer Galactose substituiert ist.*

Die Galactosen verhindern eine starke intermolekulare Kettenwechselwirkung<sup>33</sup>, so daß Guarkernmehl kaltwasserlöslich ist<sup>32,34</sup>. Guarkernmehl hydratisiert leicht und ergibt schon in sehr geringen Konzentrationen sehr hohe Viskositäten<sup>32,34</sup>. Je nach Reinheitsgrad des Polysaccharids sind Molmassenwerte von 220.000 – 2.200.000 g/mol gefunden worden. Dies entspricht 1.350 bis 13.500 Zucker-Einheiten pro Makromolekül<sup>32</sup>.

<sup>32</sup> Römpp Chemie Lexikon, Version 2.00, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1995.

<sup>33</sup> <http://www.sbu.ac.uk/water/hygua.html>, „Guar gum“, 2001.

<sup>34</sup> <http://www.consultingnet.com.cn/product/guar/guar.htm>, „Guar gum specification“, 2001.

<sup>35</sup> Williy Bernecke, Import, Export, Wholesale, [http://www.willy-benecke.com/guar\\_d.htm](http://www.willy-benecke.com/guar_d.htm), „Guar Gum“, 2001.

<sup>36</sup> <http://www.sanat.ch/deutsch/guar.htm>, „Guar“, 2001.

<sup>37</sup> <http://www.allergie-infodienst.de/nah/n0180.html>, „Nahrungsmittel Guarkernmehl“, 2001.

<sup>38</sup> Lucas Meyer, The lecithin People, Technisches Datenblatt, 2000.

Das bedeutendste Anwendungsgebiet für Guarkernmehl ist die Lebensmittelindustrie<sup>34</sup>. In der EU ist es unter der Nummer E 412 zugelassen<sup>36</sup>. Guarkernmehl wird als Verdicker und Bindemittel in Saucen, Salatdressings, Eiscreme, Suppen und Milchgetränken eingesetzt<sup>33,34,36</sup>. Da es für den Menschen vorwiegend unverdauliche, stark quellende Ballaststoffe enthält, wird es auch zu medizinischen Zwecken, etwa bei Fettleibigkeit und Übergewicht, eingesetzt. Es kann auch über längere Zeit ohne Nebenwirkungen und Gewöhnung gegen leichte Verstopfung angewandt werden. Die Ballaststoffe senken zudem wirksam den Cholesterinspiegel<sup>36,39</sup>.

### 2.3 Stärke

Das Kohlenhydrat Stärke gehört zu den wichtigsten Substanzen innerhalb der organisch-chemischen Stoffgruppe und ist in der Natur weit verbreitet. In Pflanzen übernimmt die Stärke Funktionen als Reserve- und Speicherstoff. Stärke ist in den Reserveorganen der Pflanzen wie Samenkörner, Knollen, Wurzeln und Mark in höheren Konzentrationen zu finden<sup>40,41,42</sup>.

Stärke wird in den Chloroplasten der Pflanzen mittels spezifischer Enzyme durch eine Polytransglucosidierung unter Wasserabspaltung aus der durch die Photosynthese gebildeten D-Glucose hergestellt<sup>43</sup>.

Stärke ist, da ausschließlich aus D-Glucose aufgebaut, ein Homoglucan<sup>40</sup>. Es besteht aus den beiden Polysacchariden Amylose und Amylopektin und wird in den Speicherorganen der Pflanzen im Form von Körnern eingelagert, deren Struktur und Größe für die entsprechende Pflanze charakteristisch ist<sup>44</sup>. Anhand ihrer Morphologie lassen sich die Quellen der Stärkearten unterscheiden<sup>44</sup>. In **Abbildung 2.3-1** sind als Beispiel hierfür Elektronenrastermikroskopaufnahmen der Mais-, Weizen- und Kartoffelstärke dargestellt.

---

<sup>39</sup> [http://www.verbaende.com/news/ges\\_text.php3?m=9189](http://www.verbaende.com/news/ges_text.php3?m=9189), „Die indischen Geheimwaffen: Mit Büschelbohne und Spitzwegerich gegen erhöhte Blutfette“, Deutsche Institut für Ernährungsmedizin und Diätetik e.V., 2001.

<sup>40</sup> Tegge, G., „Stärke und Stärkederivate“, Behr's Verlag Hamburg, 1984.

<sup>41</sup> Jakubke, H.-D., Jeschkeit, H. (Hrsg.), Brockhaus Chemie, Bd.2, 5.Aufl., VEB F. A. Brockhaus Verlag, Leipzig, 1987.

<sup>42</sup> FH Gießen, Internetseite der Fachhochschule Gießen zum Thema Kohlenhydrate; [www.fh-giessen.de](http://www.fh-giessen.de)

<sup>43</sup> Gruber, E., „Unterlagen zur Vorlesung „Makromolekulare Chemie, Ökologie und Ökonomie der Nachwachsenden Rohstoffe“, 2000.

<sup>44</sup> Vorweg, W., „Überblick zum Forschungsverbund „Modifizierte Stärken“ der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V.“, 1998.

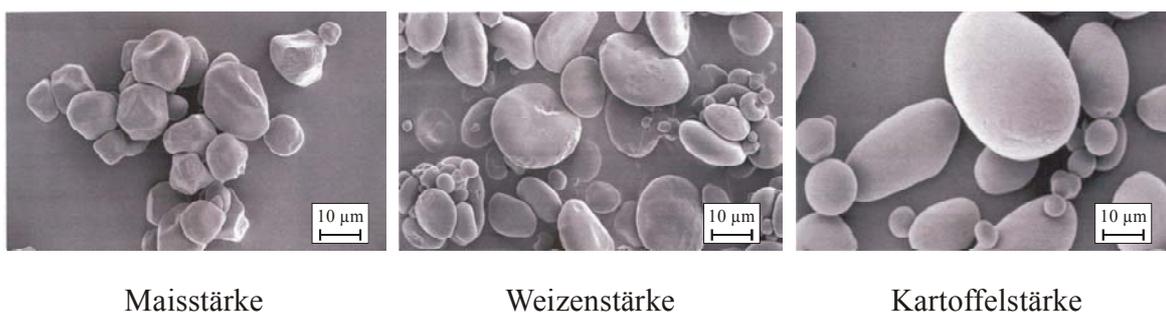


Abbildung 2.3-1 Elektronenmikroskopaufnahmen von Mais-, Weizen- und Kartoffelstärke zur Veranschaulichung der unterschiedlichen Morphologie der Stärke entsprechend ihrer Herkunft<sup>44</sup>.

Wie aus der Abbildung ebenfalls ersichtlich ist, unterscheiden sich auch die Korngrößen der unterschiedlichen Stärkearten. So weisen die Stärkekörner der Reisstärke mit einer Größe von 2 - 10 µm die kleinsten Körner auf gefolgt von der Maisstärke mit 4 - 15 µm, der Weizenstärke mit 25 - 45 µm und die der Kartoffelstärke mit den größten Körnern im Größenbereich von 20 - 180 µm<sup>43,45</sup>. Je nach Herkunft beträgt die Dichte der Stärkekörner um 1,6 g/cm<sup>3</sup> bei trockener Stärke und um 1,5 g/cm<sup>3</sup> bei ihrer jeweiligen Gleichgewichtsfeuchtigkeit<sup>40</sup>. Der Gehalt an Stärke ist je nach Pflanze unterschiedlich wie auch der Wasseranteil in der Stärke. Der Wassergehalt in der Stärke kann zwischen 12 und 21 % ausmachen, wobei Getreidestärken maximal 14 %, Wurzelstärken maximal 17 % und Kartoffelstärken maximal 21 % der Zusammensetzung an Wasser enthalten<sup>40</sup>. In **Tabelle 2.3-1** ist eine Übersicht über die Spezifikationen der einzelnen Stärkearten wiedergegeben.

Tabelle 2.3-1 Spezifikationen der verschiedenen Stärkquellen<sup>40,41,43,45,46</sup>.

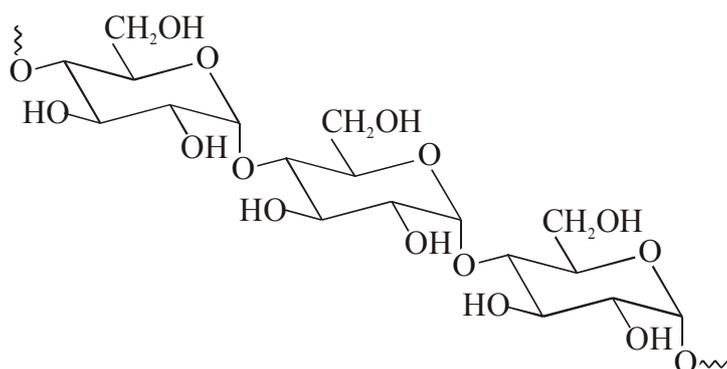
Rohstoff	Mais	Weizen	Kartoffel
Stärkegehalt (%)	60 - 70	55 - 70	12 - 20
Korngrößen (µm)	4 - 15	25 - 45	20 - 180
Wassergehalt der Stärke (%)	13	13	18 - 21
Feuchtegehalt (%)	17	13	78
Amyloseanteil der Stärke (%)	28	28	21

<sup>45</sup> Möller, E., Bochers, B., Wilken, R., „Stärke – wichtigstes Additiv in der Papierwirtschaft“, in: Nachwachsende Rohstoffe für die Chemie, 7. Symposium vom 20. – 22. März 2001, Schriftenreihe „Nachwachsende Rohstoffe“, Band 18, Landwirtschaftsverlag GmbH, Münster **2001**, 175.

<sup>46</sup> Friedt, W., Lühs W., „Perspektiven der Industriepflanzenzüchtung“ in: Nachwachsende Rohstoffe für die Chemie, 7. Symposium vom 20. – 22. März 2001, Schriftenreihe „Nachwachsende Rohstoffe“, Band 18, Landwirtschaftsverlag GmbH, Münster **2001**, 47.

Die beiden Bestandteile der Stärke, Amylose und Amylopektin, unterscheiden sich durch ihre Verzweigungsstruktur. Da die Bindungen zwischen den Glucose-Einheiten unter Wasseraustritt gebildet werden, beträgt die Molekülmasse einer Monomereinheit 162 g/mol. Bei Stärke sind die Komponenten in ihren chemischen Eigenschaften nahezu identisch. Die physikalischen Eigenschaften weichen jedoch stark voneinander ab; Dies liegt am unterschiedlichen strukturellen Aufbau von Amylose und Amylopektin<sup>40</sup>.

Die Amylose liegt überwiegend linear vor und ist  $\alpha$ -(1,4)-glykosidisch verknüpft (**Abbildung 2.3-2**). Da jede Kette auf einer Seite mit einer freien Hydroxylgruppe am anomeren Kohlenstoffatom endet und die cyclische halbacetalische Form im Gleichgewicht mit der offenkettigen aldehydischen steht, besitzt jedes Amylosemolekül ein reduzierendes und ein nicht reduzierende Ende. Die relative Molmasse der Amylose liegt im Bereich von 17.000 bis 225.000 g/mol, was 100 bis 1400 Monomereinheiten pro Kette entspricht. Der Amyloseanteil beträgt je nach Stärkeart 14 bis 27 %<sup>40,41,44,47</sup>.



*Abbildung 2.3-2 Ausschnitt aus einer Amylosekette, bestehend aus  $\alpha$ -(1,4)-verknüpften Glucoseeinheiten.*

Amylopektin mit einem Anteil von 73 - 86 % an der Stärke weist hingegen neben den linearen  $\alpha$ -(1,4)-glykosidischen Bindungen auch noch  $\alpha$ -(1,6)-Verzweigungen auf (**Abbildung 2.3-3**). Auf jeden Verzweigungspunkt kommen 15 – 30 Glucose-Einheiten<sup>48</sup>. Da jede Verzweigung durch das reduzierende aldehydische Ende der betreffenden Seitenkette begonnen werden kann, sind reduzierende Enden im Amylopektinmolekül nur in sehr geringen Mengen zu erwarten. Die Angaben über die Molmasse des Amylopektins

<sup>47</sup> Römpp Chemie Lexikon, Version 2.00, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1995.

<sup>48</sup> Elias, H.-G., „Makromoleküle“, Bd. 2: Technologie, Hüthig & Wepf, Basel, 1992.

schwanken sehr stark. Es werden Werte zwischen 300.000 und 20.000.000 g/mol angegeben<sup>40,41,44</sup>.

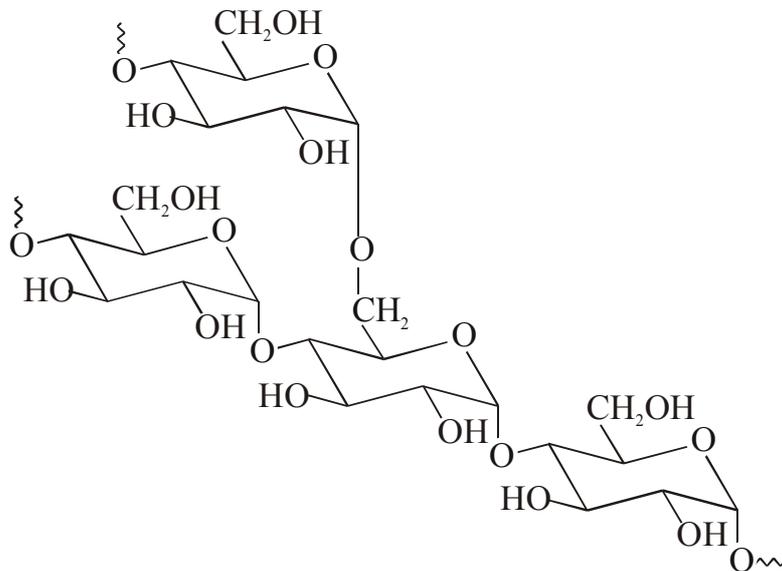


Abbildung 2.3-3 Ausschnitt aus dem Amylopektinmolekül mit  $\alpha$ -(1,4)-Bindungen und  $\alpha$ -(1,6)-Verzweigungen.

Neben den oben angegebenen Anteilen von Amylose und Amylopektin in der Stärke, gibt es auch Stärkearten, bei denen das Verhältnis von Amylose und Amylopektin vollkommen anders ist. So bestehen die sogenannten Wachsmaisstärken (waxy maize starch) zu über 99 % aus Amylopektin. Der Name Wachs-Mais-Stärke wurde diesen Stärken aufgrund der Textur des Endosperms gegeben, welcher einem harten Wachs ähnlich sieht. Wachsiges Maisstärken als Quelle von nahezu homogener Stärkeart sind von großen technischen Interesse, da sie andere Eigenschaften besitzen als Stärken mit gewöhnlichen Amylose/Amylopektin-Gehalt<sup>40</sup>.

In kaltem Wasser und den meisten organischen Lösungsmitteln ist Stärke unlöslich. Die separaten Fraktionen hingegen bilden einigermaßen stabile Lösungen, wobei das Amylopektin bessere Löslichkeit aufweist. In wäßriger Lösung liegt Amylose zum Teil als aggregierte Helix und zum Teil als Knäuel vor. In Gegenwart von Komplexbildnern wie beispielsweise Jod findet ein Übergang des Knäuels zur Helix statt<sup>40</sup>. Für Amylopektin-Lösungen wurden drei verschiedene Modelle entwickelt. Wie in **Abbildung 2.3-4** dargestellt handelt es sich dabei um a) die Lamellenstruktur nach Haworth, Hirst und Isherwood, b) die Fischgrätenstruktur nach Staudinger und Husemann und c) die Zweig- oder Baumstruktur nach Meyer und Bernfeld. Dabei wird das Zweigmodell heute als das

wahrscheinlichste angesehen<sup>49</sup>. Bei diesen Modellen unterscheidet man sogenannte A-, B- und C-Ketten. Für A-Ketten gilt, daß diese durch eine reduzierende Endgruppe mit dem restlichen Molekül verbunden sind. Bei B-Ketten ist zusätzlich eine oder sind mehrere Glucose-Einheiten über die C-6 Position substituiert. In der C-Kette ist die reduzierende Endgruppe des Amylopektinmoleküls enthalten<sup>40</sup>. Physikalische Befunde deuten auf eine globuläre Form des Amylopektinmoleküls hin.

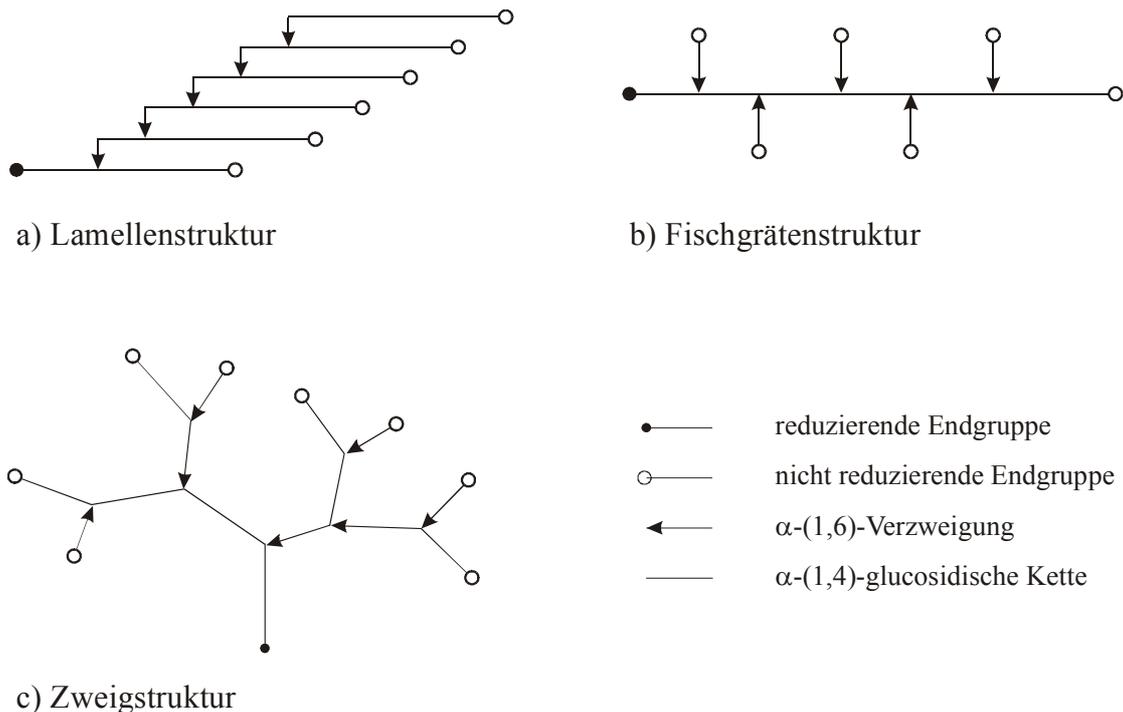


Abbildung 2.3-4 Modellvorschläge für die Amylopektinstruktur: a) Lamellenstruktur, b) Fischgrätenstruktur und c) Zweig- oder Baumstruktur.

Der Kristallisationsgrad von Stärke wird mit 21 – 31 % angegeben, wobei das Amylopektin bei den meisten Stärken für die Kristallisation verantwortlich ist. Stärke hat die Eigenschaft, in Wasser zu quellen. Dabei wird das Ausmaß der Quellung durch die Kornstruktur bestimmt, die kristallinen Bereiche halten das Korn zusammen und begrenzen seine Verformbarkeit. Beim Erhitzen von wäßrigen Suspensionen verändert sich das Erscheinungsbild des Korns erst ab einer bestimmten kritischen Temperatur, der sogenannten Verkleisterungstemperatur. Die Verkleisterungstemperatur ist für jede Stärkeart charakteristisch und die kristallinen Eigenschaften gehen ab dieser Temperatur

<sup>49</sup> Pfannenmüller, B., in „Polysaccharide: Eigenschaften und Nutzung; eine Einführung“, Burchard, W. (Hrsg.), Springer-Verlag Berlin, 1985.

verloren. Es kommt unter Aufnahme von Wassermolekülen zu einem Lösen der Wasserstoffbrückenbindungen. Diese Fähigkeit von Stärke in heißem Wasser Kleister zu bilden, ist eine der wichtigsten praktischen Eigenschaften. Insbesondere bei Amylose-Lösungen kommt es zur Ausbildung von intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen und die Amylose fällt gelartig aus. Dieser irreversible Vorgang wird als Retrogradation (= Rückläufigkeit) bezeichnet. Mittellange Amylosemoleküle zeigen die höchste Retrogradationsneigung, Amylopektin-Lösungen zeigen kaum Retrogradationserscheinungen. Das Wasserbindevermögen der Stärke wird bei diesem Vorgang verringert und es tritt freies Wasser aus (Synärese)<sup>40,41,43,48</sup>.

Stärke ist vielfältig modifizierbar, daher findet sie breite Anwendungsbereiche. Wichtige industrielle Einsatzmöglichkeiten der Stärke neben der Lebensmittelindustrie sind in der Papier und Pappen-Industrie die Herstellung von Pack-, Zeitungspapier, graphischen Papieren, Wellpappen und laminierten Papieren. In der Baustoff-Industrie wird sie u.a. in Gips-Karton- und Mineralfaserplatten eingesetzt. Die Textilindustrie nutzt Stärkeerzeugnisse als Schlichte- und Appreturmittel und als Wäscheseife. In der Klebstoffindustrie kommen Stärkeprodukte als Tapetenkleister und als Leime für Holzplatten zum Einsatz, in der Biotechnologie wird sie zu Fermentationszwecken verwendet. Bei Kunststoffen werden Stärkepräparate in Verpackungen, Folien und Formteilen zugesetzt. Die Kosmetik- und Pharma-Industrie setzt sie in Zahnpasten, Cremes, Gesichtspudern, Tabletten und Antibiotika ein<sup>46,50</sup>.

In der EU werden derzeit knapp 7,5 Millionen. Tonnen Stärke produziert<sup>51</sup>, wobei knapp 50 % im Nichtnahrungsmittelbereich eingesetzt werden, in Deutschland beträgt die Stärkeproduktion 1,5 Millionen Tonnen<sup>52</sup>. Eine Darstellung der einzelnen Sektoren ist in **Abbildung 2.3-5** gegeben.

Der Bedarf an Stärke wächst jährlich mit ca. 2 %<sup>53</sup>. Industriell wird Stärke fast ausschließlich aus Mais, Weizen, Reis und Kartoffeln gewonnen<sup>43,54</sup>.

---

<sup>50</sup> <http://www.inaro.de/Deutsch/ROHSTOFF/industrie/STAERKE/stverw.htm>, „*Stärkeverwendung*“, 2001.

<sup>51</sup> <http://www.inaro.de/Deutsch/ROHSTOFF/industrie/STAERKE/stststar.htm>, „*Statistik Stärke-Industrie Europa*“, 2001.

<sup>52</sup> <http://www.inaro.de/Deutsch/ROHSTOFF/industrie/STAERKE/statistd.htm>, „*Statistik Stärke-Industrie Deutschland*“, 2001.

<sup>53</sup> Grill, D. R., „*Was Stärke so alles kann*“, XXIII. Hamburger Makromolekulares Symposium, Polymeranalytik, Charakterisierung von Polymeren und makromolekularen Strukturen, 25. – 26. September 2000.

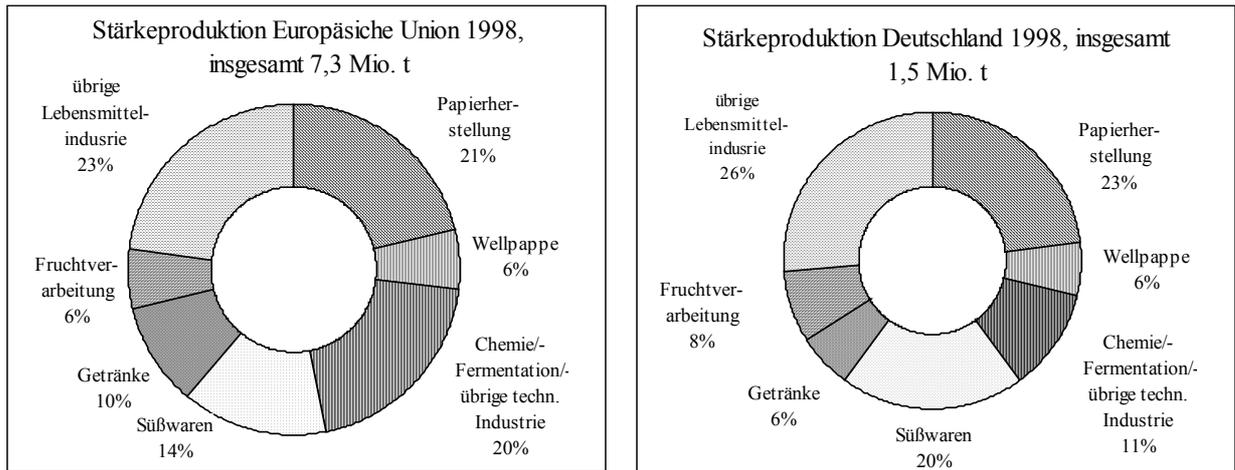


Abbildung 2.3-5 Stärkeproduktion 1998 rechts der Europäischen Union und links der BR Deutschland unterteilt in die einzelnen Segmente der Industriezweige<sup>45,51,52,55</sup>.

## 2.4 Stärke-Derivate

Native Stärke muß in vielen Fällen modifiziert werden, damit sie den Ansprüchen ihrer jeweiligen Anwendung gerecht werden kann. Die Modifizierung der Stärke dient je nach Anwendungsgebiet unterschiedlichen Zielen, wie z.B. einer Erniedrigung der Verkleisterungstemperatur, einer Erhöhung der Lagerstabilität oder Beeinflussung der Lösungseigenschaften etwa durch Veränderung des polaren Charakters des Polysaccharids. Zur Modifizierung von Stärke können unterschiedliche Techniken angewendet werden - so z.B. eine Veränderung des Amylose-/Amylopektin-Verhältnisses, ein partieller hydrolytischer Abbau oder eine chemische Derivatisierung.<sup>56</sup>

Eine Veränderung des Amylose-/Amylopektin-Verhältnisses läßt sich mittels fraktionierter Fällungsverfahren oder durch gentechnisch veränderte Pflanzen erzielen. So gibt es beispielsweise die sogenannten Wachsmaisstärken, die einen Amylopektingehalt von über 99 % haben. Die Wachsmaisstärken setzt man vor allem ein, wenn hohe Kleisterviskosität, Klebkraft, Glanz und Klarheit verlangt werden. Modifizierte Wachsmaisstärken haben in der Medizin als Blutplasmaersatzmittel ein wichtiges Einsatzgebiet.

<sup>54</sup> Müller, C. F., „Leitfaden Nachwachsende Rohstoffe: Anbau – Verarbeitung- Produkte“, C. F. Müller Verlag, Hüthig GmbH Heidelberg, 1998.

<sup>55</sup> Fachverband der Stärke-Industrie e.V. (Hrsg.), „Zahlen & Fakten zur Stärke-Industrie“, Ausgabe 1999, Bonn, 1999.

<sup>56</sup> Römpp Chemie Lexikon, Version 2.00, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1995.

Es wurden auch schon amylose-reiche Stärkesorten gezüchtet, bei diesen speziell kultivierten Sorten kann der Amylosegehalt bis zu 85 % betragen<sup>57</sup>. Amylosereiche Stärken zeichnen sich durch ihre guten Eigenschaften in der Filmbildung aus. In der Papierindustrie werden sie als Überzugs- und Beschichtungsmittel eingesetzt, im Bereich der Nahrungsmittelindustrie dienen sie u.a. als Pasten und Überzüge<sup>57</sup>. Mit zunehmenden Amylosegehalt nehmen Eigenschaften wie Biiegsamkeit und Berstfestigkeit zu. Vorweg und Loth konnten zeigen, daß bei amylose-reichen Stärken die Zugfestigkeit erheblich erhöht wurde<sup>58</sup>.

Ein partieller hydrolytischer Abbau kann unter kontrollierten Bedingungen säurehydrolytisch, alkalisch/oxidativ, thermisch oder mittels spezieller Enzyme durchgeführt werden. Hierbei werden Stärken erhalten, die auch bei höherer Konzentration niedrig viskose Lösungen ergeben.

Die Derivatisierung von Stärke in polymeranalog<sup>59</sup> verlaufenden Reaktionen bietet die vielfältigsten Möglichkeiten zur Modifizierung. Meist werden die Hydroxy-Gruppen der Anhydroglucose-Einheiten einer Veresterung oder Veretherung unterzogen. Die Zahl der derivatisierten Hydroxy-Gruppen wird durch den Substitutionsgrad beschrieben. Hierbei wird zwischen durchschnittlichen Substitutionsgrad (DS, degree of substitution) und molaren Substitutionsgrad (MS, molar substitution) unterschieden.

Der durchschnittliche Substitutionsgrad (DS) ist definiert als der Anteil der durchschnittlich eingeführten Substituenten pro Anhydroglucose-Einheit. Bei Stärke können pro Anhydroglucose-Einheit maximal drei Hydroxy-Gruppen substituiert werden. Der DS liegt damit zwischen 0 und 3. Der DS ist unabhängig davon, ob einfach oder mehrfach substituiert wurde.

Der molare Substitutionsgrad (MS) gibt an, wieviel Mole eines Derivatisierungsreagenzes an ein Mol der jeweiligen Monomereinheit angelagert wurden. Da auch an schon einge-

---

<sup>57</sup> Tegge, G., „*Stärke und Stärkederivate*“, Behr's Verlag Hamburg, **1984**.

<sup>58</sup> Vorweg, W., Loth, F., „*Stärke und Cellulose für neue Anwendungen*“, Spektrum der Wissenschaft, **1994**, 107.

<sup>59</sup> Polymeranaloge Reaktionen sind Reaktionen an Makromolekülen, die unter Erhalt des Polymercharakters der Substrate durchgeführt werden; sie bewirken also die Umwandlung eines Polymeren in ein anderes. Sie verlaufen im allgemeinen nicht quantitativ, nicht alle funktionellen Gruppen werden umgesetzt.

fürten Substituenten noch weitere gebunden werden können, kann der MS größer als der DS sein ( $MS > DS$ , Monosubstitution:  $MS = DS$ ).<sup>56,60,61</sup>

Die Eigenschaften der Stärke-Derivate hängen von dem erhaltenen Polymerisationsgrad und der Polydispersität, der Art und Anzahl der eingeführten Substituenten und die Verteilung der Substituenten entlang der Kette ab.

### 2.4.1 Hydroxyethylstärke

Bei Hydroxyethylstärke (HES) handelt es sich um Ether-Derivate der Stärke.

Zur Herstellung von HES wird von amylopektin-reichen Stärken ausgegangen. Zur Veretherung wird die native Stärke sauer oder enzymatisch hydrolysiert und das Hydrolysat in alkalischer Lösung mit Ethylenoxid umgesetzt<sup>62</sup>. Nach Neutralisation der Lösung wird das Rohprodukt von Salzen und Nebenprodukten gereinigt. Anschließend erfolgt eine Fällung des Präparates, bei der kleine Molekülfractionen abgetrennt werden, sowie Trocknung<sup>63</sup>. Das Hydroxyethylstärkemolekül ist - wie das Ausgangsprodukt Amylopektin - aus linearen  $\alpha$ -(1,4)-glykosidisch gebundenen Anhydroglucose-Einheiten mit  $\alpha$ -(1,6)-Verzweigungen aufgebaut (**Abbildung 2.4.1-1**), die ca. 4 - 5 % ausmachen. Die Substitution an den Kohlenstoffatomen C-2, C-3 und C-6 erfolgt im Verhältnis  $C-2 : C-3 : C-6 = 80 : 10 : 10$ <sup>64,65</sup>. Mit steigendem Substitutionsgrad ist auch Mehrfachsubstitution möglich, da die Hydroxy-Funktion der eingeführten Hydroxyethyl-Gruppe ebenfalls verethert werden kann<sup>66</sup>.

---

<sup>60</sup> Schmuck, B., „Physikochemische Grundlagen der Volumenersatzmittel“, in: Bernburger Kolloquium, „Symposiumsbericht: 50 Jahre Dextran als kolloidaler Volumenersatz“, Wissenschaftliche Nachrichten und Mitteilungen der Serum-Werke Bernburg AG, Heft 1, **1993/94**.

<sup>61</sup> Sommermeyer, K., „Neue Entwicklungen zur physikalisch-chemischen Charakterisierung von HES“, in: „Hydroxyethylstärke – Eine aktuelle Übersicht“, Lawin, P., Zander, J., Weidler, B., Thieme Verlag Stuttgart, **1989**, 1.

<sup>62</sup> Förster, H., Asskali, F., Nitsch, E., „Verfahren zur Herstellung von Stärkeestern für klinische, insbesondere parenterale Anwendung“, Offenlegungsschrift DE 4123000 A1, 14. Jan. **1993**.

<sup>63</sup> Laevosan Gesellschaft m.b.H., Linz, „ExpaHES (HES 200/0,5) 10%“, Produktinformation **2/1994**.

<sup>64</sup> Kaiser, U., „Bestimmung der Molmassen und Molmassenverteilungen zur Charakterisierung von Polysacchariden“, Dissertation Universität Hamburg, **1991**.

<sup>65</sup> Kulicke, W.-M., Roessner, D., Kull, W., „Characterization of Hydroxyethyl Starch by Polymer Analysis for Use as a Plasma Volume Expander“, starch/stärke **45 (12)**, **1993**, 445.

<sup>66</sup> Sommermeyer, K., Cech, F., Schmidt, M., Weidler, B., „Klinisch verwendete Hydroxyethylstärke: Physikalisch-chemische Charakterisierung“, Krankenhauspharmazie **8 (8)**, **1987**, 271.

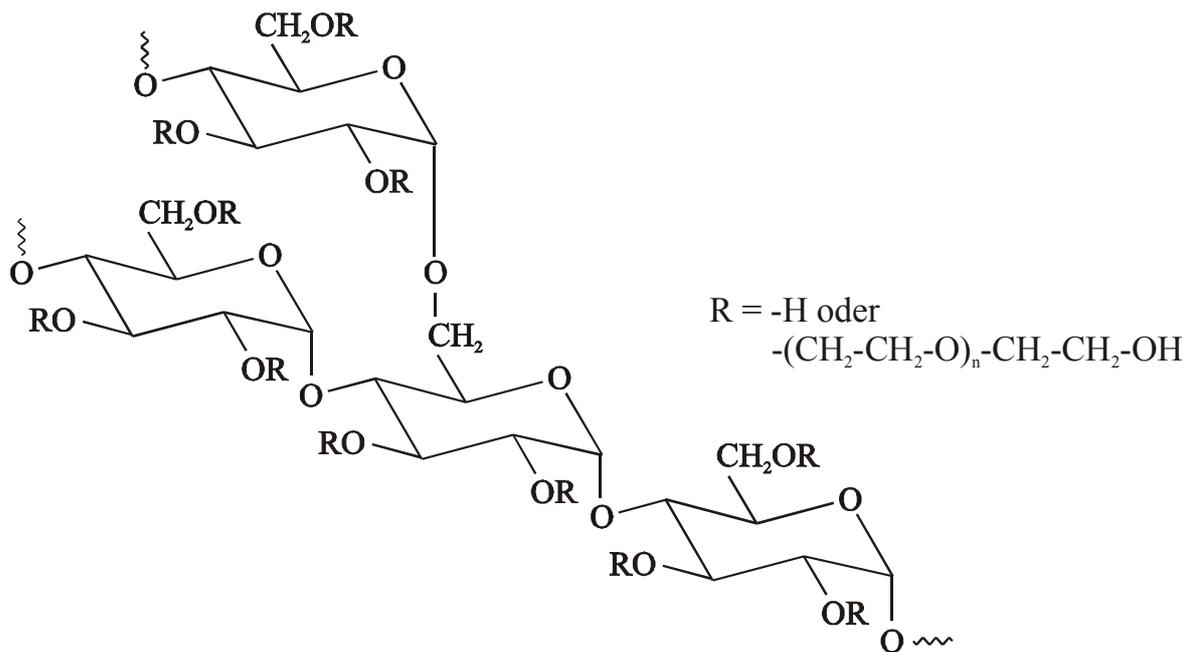


Abbildung 2.4.1-1 Ausschnitt aus dem Hydroxyethylstärkemolekül mit  $\alpha$ -(1,4)-glykosidischen Bindungen und  $\alpha$ -(1,6)-Verzweigung.

Die Hydroxyethylierung hat einen starken Einfluß auf die Verkleisterungseigenschaften. Die Verkleisterungstemperatur sinkt mit steigendem Substitutionsgrad. Ab Substitutionsgraden von ca. 0,4 kann man von kaltwasserlöslichen Produkten ausgehen.

Die Hydroxyethylstärke-Lösungen unterscheiden sich von denen nicht modifizierter Stärke durch eine höhere Klarheit, eine geringere Retrogradationsneigung<sup>67</sup> und eine erhöhte Stabilität gegenüber Säuren, Alkalien und Enzymen<sup>68</sup>.

Hydroxyethylstärken finden Verwendung als Bindemittel für Papierstreichmassen, Schlichtemittel in der Textilindustrie, Verdickungsmittel in der Nahrungsmittelindustrie und als Klebrohstoffe. Diese modifizierten Stärken, bei denen ein Teil der Hydroxyl-Gruppen mit Ethylenglycol verethert ist, finden seit langem Verwendung als Klebstoffe.

Nachdem Wiedersheim<sup>69</sup> 1957 über eine Hydroxyethylstärke berichtete, die sich in Tierversuchen als Plasmaersatzmittel geeignet zeigte, finden sie heute eine breite

<sup>67</sup> Retrogradation: Unter diesem Begriff werden solche Prozesse zusammengefaßt, die zu einem graduellen, aber irreversiblen Unlöslichwerden von kolloidalen Stärke-Lösungen führen. Bei der Retrogradation ändert zunächst die Amylose ihre Konformation, dann beginnt die Kristallisation des Amylopektins, die zu einem Nachhärten des Lebensmittels während der Lagerung führt, hier sei besonders auf das Hartwerden von Brot hingewiesen.

<sup>68</sup> Römpp Chemie Lexikon, Version 2.00, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1995.

<sup>69</sup> Wiedersheim, M., „Oxyethylstarch as a new plasma volume expander in animals“, Arch. Int. Pharmacodyn. 111, 1957, 353.

Anwendung im Bereich der Medizin als kolloidale Plasmaersatzmittel<sup>70,71,72</sup> und auch zu anderen therapeutischen Zwecken etwa bei Veränderung der Mikrozirkulation, retinalen Durchblutungsstörungen, Hörsturz und peripheren arteriellen Verschlusskrankheiten<sup>73</sup>. (Zu Plasmaersatzmittel s. Kapitel 3 Blutplasmaersatzmittel, und Kapitel 3.1 Hydroxyethylstärke als Blutplasmaersatzmittel.)

## 2.4.2 Acetylstärke

Bei Acetylstärke handelt es sich um ein Stärke-Derivat mit Esterfunktionen. Von den Stärke-Estern haben nur sie und Stärkecitrate eine technische Bedeutung. Partiiell veresterte Stärken werden u.a. zur Herstellung von Filmen und Folien verwendet<sup>74</sup>.

Bei der Acetylstärke handelt es sich – wie bei der Hydroxyethylstärke – um ein verzweigtes Polymer, dessen Hauptkette aus  $\alpha$ -(1,4)-glykosidisch verknüpften Glucose-Einheiten besteht, die durch  $\alpha$ -(1,6)-Bindungen verzweigt sind. Die Hydroxy-Gruppen sind zum Teil mit Acetyl-Gruppen (in Abbildung 2.4.1-1 in Kapitel 2.4.1 Hydroxyethylstärke ist der Rest  $R = H$  oder  $-COCH_3$ ) verestert. Somit liegt im Gegensatz zur Hydroxyethylstärke bei der Acetylstärke kein Ether, sondern ein Ester vor. Das Substitutionsmuster zeigt bei den meisten Acetylstärken ein Verhältnis von C-3 : C-2 : C-6 = 55 : 30 : 15. Es sind auch Acetylstärken untersucht worden, bei denen das Verhältnis von Substitutionen an den Positionen C-3 und C-2 nahezu gleich ist<sup>75</sup>. Damit kann man das Substitutionsmuster der Acetylstärken mit  $C-3 \geq C-2 \gg C-6$  angeben. Hier ist auch der molare Substitutionsgrad gleich dem durchschnittlichen Substitutionsgrad, da keine Mehrfachsubstitution an den eingeführten Acetylresten möglich ist.

Zur Herstellung von wasserlöslichen, physiologisch verträglichen Stärke-Estern wird native Wachsmaisstärke partiell auf Molmassen im Bereich von 10.000 bis 500.000 g/mol

---

<sup>70</sup> Pschyrembel, W., „*Klinisches Wörterbuch mit klinischen Syndromen*“, 251. Aufl., de Gruyter Verlag **1972**.

<sup>71</sup> Mutschler, E., „*Arzneimittelwirkungen*“, Wissenschaftl. Verlagsges. Stuttgart, 4. Aufl., **1981**.

<sup>72</sup> Pöhlmann, R., „*Hydroxyethylstärke: Chemische Charakterisierung und Pharmakokinetik*“, *Krankenhauspharmazie 12 (11)*, **1991**, 496.

<sup>73</sup> Braun, „*Rheohes 40, wissenschaftliche Basisinformation*“, Braun, Geschäftsbereich Pharma, B. Braun Melsungen AG 4.4. **1992**.

<sup>74</sup> Römpp Chemie Lexikon, Version 2.00, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1995**.

<sup>75</sup> Heins, D., Kulicke, W.-M., Käuper, P., Thieking, H., „*Characterization of Acetyl Starch by Means of NMR Spectroscopy and SEC/MALLS in Comparison with Hydroxyethyl Starch*“, *Starch/Stärke 50*, **1998**, 431.

(je nach Anforderungen an den Stärke-Ester) hydrolysiert. Das Teilhydrolysat wird im alkalischen Medium mit Essigsäureanhydrid oder -halogeniden bis zum gewünschten Substitutionsgrad verestert. Aus dem erhaltenen Reaktionsgemisch werden die Salze abgetrennt und das Produkt getrocknet<sup>76</sup>.

Weiteres zur Acetylstärke siehe Kapitel 3 Blutplasmaersatzmittel und Kapitel 3.2 Acetylstärke als alternatives Blutplasmaersatzmittel.

### 2.4.3 Hydroxypropylstärke

Neben der Hydroxyethylstärke ist die Hydroxypropylstärke (HPS) der wichtigste Stärke-Ether<sup>77</sup>.

Hydroxypropylstärke wird im allgemeinen im sogenannten Slurry-Verfahren hergestellt (s. **Abbildung 2.4.3-1**). Hierbei werden Stärken im alkalischen Medium mit Propylenoxid umgesetzt. Nach der Reaktion werden die Produkte im allgemeinen filtriert, gewaschen und getrocknet<sup>78</sup>.

Die Hydroxypropyl-Gruppen befinden sich insbesondere bei niedrig substituierten Hydroxypropylstärken hauptsächlich in der C-2 Position der Anhydroglucose-Einheiten.

Kommerzielles Interesse besteht an Hydroxypropylstärken mit einem Substitutionsgrad von 0,1. Dies entspricht in etwa einem Hydroxypropyl-Substituenten pro 10 Anhydroglucose-Einheiten.

Im Gegensatz zu nicht modifizierten Stärken zeigen Hydroxypropylstärken eine niedrigere Verkleisterungstemperatur. Ihre Kleister sind klarer und haben eine höhere Transparenz. Dabei ist die Löslichkeit höher, die Retrogradationsneigung geringer und die Lagerstabilität besser. Filme aus Hydroxypropylstärken sind klarer und flexibler als die vergleichbaren aus nicht modifizierten Stärken.

---

<sup>76</sup> Förster, H., Asskali, F., Nitsch, E., „*Verfahren zu Herstellung von Stärkeestern für klinische, insbesondere parenterale Anwendung*“, Offenlegungsschrift DE 41 23 000 A 1, 14.1.1993.

<sup>77</sup> Tegge, G., „*Stärke und Stärkederivate*“, Behr's Verlag Hamburg, 1984.

<sup>78</sup> Römpp Chemie Lexikon, Version 2.00, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1995.

Verwendung finden Hydroxypropylstärken als Textilschlichte, Klebstoffrohstoff und im besonderen im Nahrungsmittelbereich, wo sie als Verdickungsmittel eingesetzt oder zu eßbaren Folien verarbeitet werden<sup>77,78,79</sup>.

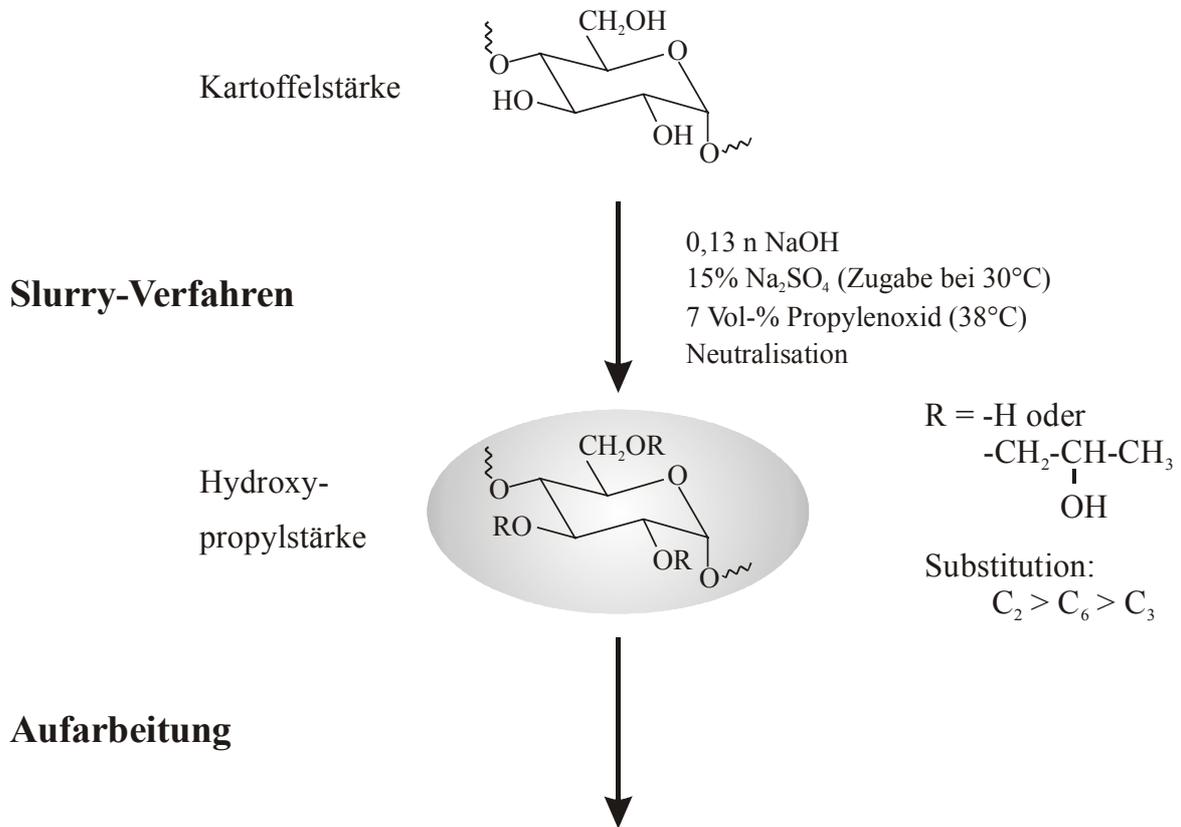


Abbildung 2.4.3-1 Schematische Darstellung der Herstellung von Hydroxypropylstärke im Slurry-Verfahren.

<sup>79</sup> Daniel, J. R., Whistler, R. I., Voragen, A. C. J., Pilnik, W., in: „Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry“, Vol. A 25, VCH Weinheim, 1994.

### 3 Blutplasmaersatzmittel

Bei einem Erwachsenen beträgt das Blutvolumen durchschnittlich 77 ml/kg Körpergewicht ( $\pm 10\%$ ) oder anders ausgedrückt ca. 1/13 des Körpergewichtes. Damit besitzt ein normal gewichtiger Erwachsener rund 5,4 l Blut. Das Gesamtvolumen des Blutes wird durch regulatorische Einflüsse der Niere und den Durstmechanismus relativ konstant gehalten. 15 % des Blutvolumens, das entspricht ungefähr 900 ml, befinden sich im arteriellen System.

Der Flüssigkeitsaustausch zwischen Gewebe und arteriellem System wird durch den kapillaren Blutdruck und dem kolloidosmotischen Druck des Blutes garantiert. Der kolloidosmotische Druck wird durch Plasmaproteine reguliert, hierbei ist das Albumin maßgeblich beteiligt. Der kolloidosmotische Druck im Plasma liegt bei 25<sup>1</sup> mm Hg bis 38<sup>2</sup> mm Hg.

Ein Volumenmangel im Kreislaufsystem durch Blutverlust muß wegen Rückwirkung auf den Blutkreislauf und die Herzfunktion ausgeglichen werden<sup>4</sup>, es kann zu lebensbedrohlichen Schockzuständen durch Volumenverlust kommen<sup>3,5</sup>.

Bei dem zum Ausgleich von Blutverlusten verwendeten Medien unterscheidet man Blutersatz, Plasmaersatz und Volumenersatz. Blutersatz bedeutet, daß Sauerstoffträger und Gerinnungsfaktoren ersetzt und die onkotische<sup>6</sup> Wirkung sowie die Transportfunktionen des Blutes aufrecht erhalten werden. Bei Plasmaersatz werden nur die Gerinnungsfaktoren ersetzt und Transportfunktion und onkotische Wirkung bleiben erhalten. Volumenersatz geschieht durch Verdünnung der Restblutmenge möglichst unter Erhalt des onkotischen Druckes<sup>7</sup>.

---

<sup>1</sup> 25 mm Hg = 33,3 hPa.

<sup>2</sup> 38 mm Hg = 50,7 hPa.

<sup>3</sup> Lutz, H. (Hrsg.), „*Plasmaersatzmittel*“, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1975**.

<sup>4</sup> Auterhoff, H., Knabe, J., Höltje, H.-D., „*Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie*“, 13. Aufl., Wiss. Verlagsges. mbH Stuttgart, **1994**, 595.

<sup>5</sup> Erhart, G., Ruschig, H., „*Arzneimittel*“, Bd. 1, 1. Aufl., Verlag Chemie Weinheim, **1968**.

<sup>6</sup> Als kolloidosmotischen oder onkotischen Druck bezeichnet man den osmotischen Druck, der entsteht, wenn hochmolekulare Substanzen durch semipermeable Membranen vom Lösungsbereich abgegrenzt werden. Die Meßgröße des KOD ist dann ausschließlich von der Zahl der gelösten Moleküle und nicht von deren Größe abhängig.

<sup>7</sup> Adams, H. A., Hempelmann, G., „*Therapie mit Volumenersatzmitteln*“, *Anesthesiologie und Intensivmedizin* 10, **1991**, 277.

Die Verwendung von Vollblut ist der beste Weg, verlorenes Blutvolumen aufzufüllen<sup>8</sup>, da hierdurch gleichzeitig Flüssigkeit, Elektrolyte, Proteine, Gerinnungsfaktoren, Immunglobuline usw. zugeführt werden. Nachteilig hingegen ist, daß Vollblut nur begrenzt verfügbar ist, daß zum Teil ein erheblicher technischer Aufwand bezüglich Transport und Lagerung betrieben werden muß, es Blutgruppeninkompatibilitäten gibt und Infektionsgefahr besteht.

Blutersatzstoffe können die Aufgaben des Blutes wie Sauerstofftransport, Infektabwehr und die Versorgung der Organe mit lebensnotwendigen Stoffen nicht übernehmen. Jedoch kann durch eine Volumenauffüllung die lebensbedrohliche Schocksituation abgewendet werden.

Die verschiedenen Elektrolyt- und Zuckerlösungen sind für die Volumensubstitution kaum geeignet, da die niedermolekularen Bestandteile die Blutbahn sehr rasch verlassen und das Wasser aus osmotischen Gründen mitnehmen<sup>7,8</sup>. Große Mengen von infundierten Kochsalzlösungen führen zu Schwellungen der Magenwand.

Künstliche oder körperfremde Blutplasmaersatzmittel können alternativ eingesetzt werden und das Einsatzgebiet sogar noch erweitern und werden heute vielfach verwendet<sup>9,10,11</sup>. Dabei übernehmen sie die Funktion des Volumenauffüllens aber keine weiteren Funktionen des Blutes. Körperfremde kolloidale Blutplasmaersatzmittel zeigen folgende Vorteile: die Übertragung von Krankheiten ist ausgeschlossen, es gibt keine Abhängigkeit von den jeweiligen Blutgruppen, sie sind günstig, lagerfähig und in großen Mengen verfügbar. Nachteile bei diesen Mittel sind, daß sie nur mengenbegrenzt eingesetzt werden können, da Sauerstoffträger und Gerinnungsfaktoren fehlen, Unverträglichkeitsreaktionen ausgelöst werden können und es zu Ablagerungen im Körper kommen kann<sup>7</sup>.

Blutplasmaersatzmittel sind Lösungen von polymeren Substanzen in blutisotonen Elektrolytlösungen<sup>3</sup>. Die Wirkungsweise kristalloider und kolloidaler Ersatzmittel ist in

---

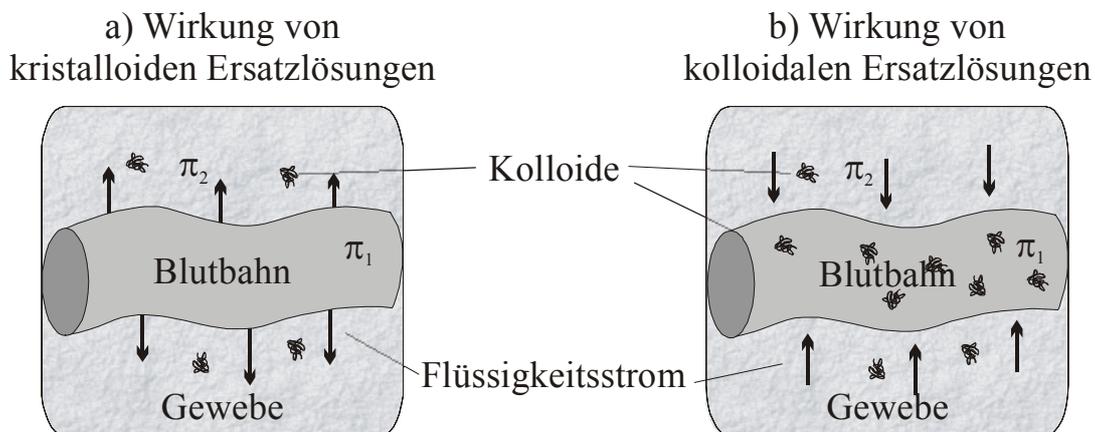
<sup>8</sup> Reuter, H. D., „Mittel zur Behandlung von Anämien, zum Blutersatz, zur Behandlung von Hämostasestörungen und zur Verbesserung der Fließeigenschaften des Blutes“, in: Estler, C.-J., „Lehrbuch der allgemeinen und systematischen Pharmakologie und Toxikologie“, Kapitel 14, Schattauer Verlag Stuttgart, **1986**, 251.

<sup>9</sup> Mutschler, E., „Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie“, 7.Aulf., Wiss. Verlagsges. mbH Stuttgart, **1997**.

<sup>10</sup> Estler, C.-J., „Lehrbuch der allgemeinen und systematischen Pharmakologie und Toxikologie“, Schattauer Stuttgart, **1986**, 251.

<sup>11</sup> Forth, W., Henschler, D., Rummel, W., „Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie“, Wissenschaftsverlag Mannheim, **1987**, 169.

**Abbildung 3-1** vergleichend dargestellt. Bei kristalloiden Lösungen sind keine Kolloide vorhanden, damit ist der kolloidosmotische Druck  $\pi$  außerhalb der Blutbahnen größer als innerhalb ( $\pi_2 > \pi_1$ ). Aufgrund von osmotischen Effekten kommt es zu einer Wanderung der Flüssigkeit aus dem arteriellen System in das Gewebe. Wird keine weitere Flüssigkeitszufuhr in das arterielle System von außerhalb fortgesetzt, kann es zur Kollabierung der Gefäße kommen. Bei Einsatz von kolloidalen Blutersatzmitteln wird durch die Kolloide der kolloidosmotische Druck innerhalb der Blutbahnen erhöht, für den Fall, daß beide kolloidosmotischen Drücke gleich sind ( $\pi_1 = \pi_2$ ), ist ein 100%iger Volumeneffekt erreicht. Zur Volumenauffüllung kann es sogar sinnvoll sein, hyperonkontische Kolloid-Lösungen zu verabreichen. Hierbei ist der Druck  $\pi_2$  im Gewebe kleiner als der Druck  $\pi_1$  innerhalb der Blutbahnen, die Blutbahnen können nicht kollabieren. Durch Osmose wird dafür gesorgt, daß aus dem Gewebe Flüssigkeit in die Blutbahnen strömt. Dadurch wird mehr Volumen ersetzt, als dem infundierten Volumen entspricht. Daher werden diese hyperonkontischen Kolloidlösungen auch als Blutplasmaexpander bezeichnet.



*Abbildung 3-1 Schematische Darstellung der Wirkungsweise von Blutplasmaersatzmitteln, links: kristalloide Blutplasmaersatzmittel führen zu einem Ausströmen von Flüssigkeit ins Gewebe, rechts: kolloidale Blutplasmaersatzmittel führen in Abhängigkeit von der Konzentration zu einem Einströmen von Gewebeflüssigkeit.*

An ideale Blutersatzstoffe werden einige Anforderungen gestellt: Die kolloidalen Lösungen der Plasmaersatzstoffe sollten einen dem Plasmaprotein entsprechenden kolloidosmotischen Druck erzeugen (= isoonkontisch), blut-isoton sein und eine

ausreichend lange Zeitdauer in der Blutbahn verbleiben. Das eingesetzte Polymer sollte harngängig oder metabolisierbar sein. Es sollte keine allergenen, antigenen oder pyrogenen Reaktionen im Körper hervorrufen und die Blutviskosität nicht erhöhen. Wünschenswert ist weiterhin, daß es temperaturunempfindlich und lagerungsfähig ist<sup>3,4,8,12</sup>.

Im Laufe der Jahre sind verschiedene Plasmaersatzstoffe getestet worden. Polyvinylpyrrolidone, die insbesondere zur Zeit des zweiten Weltkrieges eingesetzt wurden, sind nicht metabolisierbar und werden im Körper gespeichert werden. Sie haben heutzutage keine Bedeutung mehr. Die Suche nach verträglichen Ersatzstoffen hat u.a. auch zur untoxischen Stärke geführt. Native Stärke kann aufgrund ihrer schlechten Löslichkeit und der Bildung hochviskoser Kleister nicht verwendet werden. Auch ihre Verweildauer im Organismus ist mit ca. 10 Minuten zu gering<sup>3</sup>.

Verbindungen, welche die geforderten Eigenschaftsprofile für Blutersatzmittel zumindest zufriedenstellend erfüllen, sind modifizierte Gelatine, Dextrane und Hydroxyethylstärke. Hier kam es in den vergangenen Jahren zu einer Verschiebung der Marktanteile. In **Tabelle 3-1** sind die Marktanteile für das Jahr 1986 und 1996 von Blutplasmaersatzmitteln gezeigt<sup>13</sup>. Anhand der Zahlen ist zu sehen, daß sich die Marktanteile (prozentual) stark zugunsten der Hydroxyethylstärke verschoben haben.

*Tabelle 3-1 Marktanteil der gebräuchlichen Blutplasmaersatzmittel in Deutschland (West) 1986 und 1996.*<sup>13</sup>

Blutplasmaersatzmittel	Einheiten (1986)	Anteil in % (1986)	Einheiten (1996)	Anteil in % (1996)
gesamt	3.209.400	100	3.603.700	100
Hydroxyethylstärke	1.448.000	45	2.917.300	81
Gelatine	345.700	11	597.900	17
Dextran	1.415.700	44	88.500	2

<sup>12</sup> Weidhase, R., „Aufbau, Struktur und biochemische Eigenschaften von kolloidalen Volumenersatzmitteln“, in: Bernburger Kolloquium, „Symposiumsbericht: 50 Jahre Dextran als kolloidaler Volumenersatz“, Wissenschaftliche Nachrichten und Mitteilungen der Serum-Werke Bernburg AG, Heft 1, **1993/94**.

<sup>13</sup> IMS Institut für Medizinische Statistik, Frankfurt, **1998**.

Plasmaersatzmittel werden auf die gewünschten Eigenschaften wie z.B. Volumeneffekt oder die Verweildauer eingestellt. Der Volumeneffekt ist abhängig von der Konzentration der Moleküle, die Verweildauer von der Molmasse, dem Substitutionsgrad und -muster und der Abbaukinetik.

### 3.1 Hydroxyethylstärke als Blutplasmaersatzmittel

In der Medizin wurde nach gut verträglichen Blutersatzstoffen gesucht. Die untoxische und nicht antigene Stärke ist jedoch für einen Einsatz als Blutersatzmittel nicht geeignet, da sie in Wasser unlöslich bzw. ihre Kleister hochviskos sind. Außerdem werden Stärken von körpereigenen Amylasen sehr rasch abgebaut und aus dem Organismus ausgeschieden.

Zur Erniedrigung der Viskosität kann die Stärke durch partielle Hydrolyse abgebaut werden. Die Erhöhung der Löslichkeit und eine Verlängerung der Verweildauer im Körper kann man durch partielle Substitution der Hydroxy-Gruppen der Anhydroglucose-Einheiten erreichen.

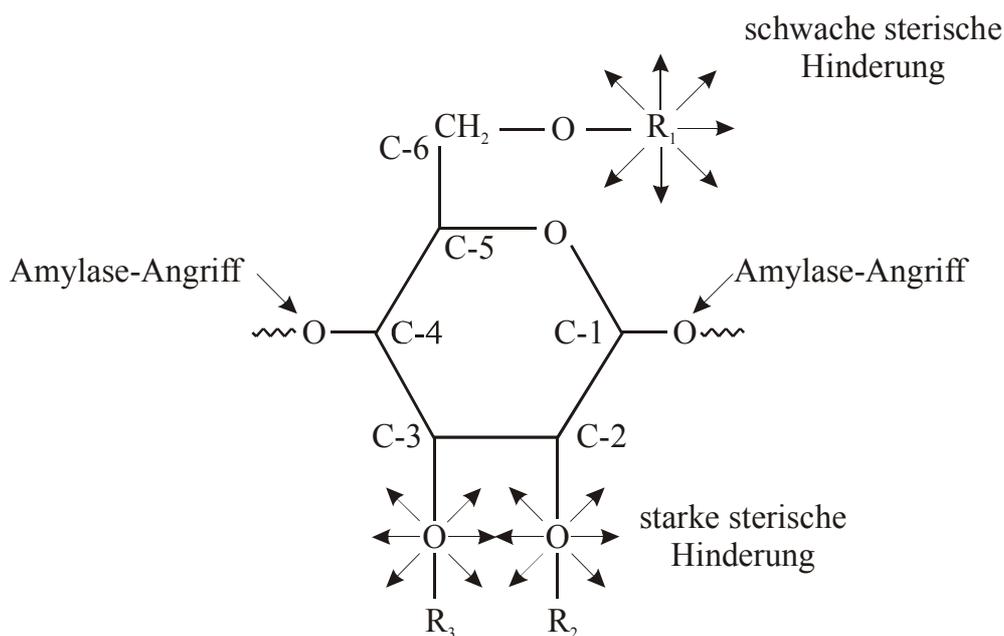
Somit bietet sich der Stärke-Ether Hydroxyethylstärke als kolloidaler Volumenersatz bei Blutverlusten an Stelle von Vollblut an. Als Ausgangsstoff für Hydroxyethylstärken, die im medizinischen Bereich eingesetzt werden, verwendet man Wachs-Mais-Stärken mit einem hohen Amylopektingehalt. Sie werden säurehydrolytisch oder enzymatisch auf die medizinisch gewünschten Molmassenbereiche abgebaut, die zwischen 40.000 g/mol und 450.000 g/mol liegen<sup>14</sup>. Nach der anschließenden Hydroxyethylierung im alkalischen Milieu mit Ethylenoxid werden die niedermolekularen Anteile meist mittels Membranfiltration abgetrennt.

Der Substitutionsgrad muß so eingestellt werden, daß sich die Stärke zum einen gut löst, zum anderen aber der enzymatische Abbau im Organismus nicht zu stark gehemmt ist. Er hat auch einen entscheidenden Einfluß auf das Verhalten der Hydroxyethylstärke: Bei einem zu kleinen Substitutionsgrad ist die Löslichkeit zu schlecht, ein zu hoher kann hingegen toxische Nebenwirkungen hervorrufen. Im klinischen Einsatz haben sich Hydroxyethylstärken mit einem molaren Substitutionsgrad von 0,5 bis 0,7 als gut geeignet erwiesen<sup>14</sup>.

---

<sup>14</sup> Pöhlmann, R., „Hydroxyethylstärke: Chemische Charakterisierung und Pharmakokinetik“, *Krankenhauspharmazie* 12 (11), 1991, 496.

Die Substitution kann theoretisch an den Hydroxyl-Gruppen von C-2, C-3 und C-6 erfolgen, wobei bei HES die C-2-Substitution bevorzugt ist<sup>15</sup>. HES wird im Blut durch  $\alpha$ -Amylase abgebaut. Die intravasal aktivierte Amylase ist nur in der Lage, (1,4)-glykosidische Bindungen zu spalten<sup>16</sup>. Unangreifbar für die  $\alpha$ -Amylase sind glykosidische Bindungen in Nachbarstellung zu substituierten Glucose-Einheiten<sup>17</sup>. Wie aus **Abbildung 3.1-1** ersichtlich ist, behindert die Substitution in Position 2 den Abbau der Hydroxyethylstärke durch  $\alpha$ -Amylase.



R = -H oder  $-(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{O})_n\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$       Substitutionsmuster  
 C-2 > C-6 > C-3

Abbildung 3.1-1 Schematische Darstellung der möglichen Angriffstellen der  $\alpha$ -Amylase und der unterschiedlichen sterischen Hinderung durch die Substituenten.

<sup>15</sup> Sommermeyer, K., Cech, F., Schmidt, M., Weidler, B., „Klinisch verwendete Hydroxyethylstärke: Physikalisch-chemische Charakterisierung“, Krankenhauspharmazie 8 (8) 1987, 271.

<sup>16</sup> Weidler, B., von Bormann, B., Sommermeyer, K., Lohmann, E., Peil, J., Hempelmann G., „Pharmakokinetische Merkmale als Kriterien für den klinischen Einsatz von Hydroxyethylstärke“, Arzneim.-Forsch./Drug Res. 41 (I), 1991.

<sup>17</sup> Halmágyi, M., „Zur Bewertung des kolloidalen Volumenersatzmittels 6% HÄS 40/0,5“, Anaesthesist 33, 1984, 73.

Die Pharmakokinetik (Volumeneffekt, Verweildauer, Metabolisierbarkeit) wird durch die Molmasse, die Molmassenverteilung, den Substitutionsgrad und das –muster bestimmt<sup>18</sup>. In **Tabelle 3.1-1** sind initiale Halbwertszeiten verschieden hochmolekularer und substituierter HES-Präparate angegeben.

*Tabelle 3.1-1 Initiale Halbwertszeiten von HES-Präparaten in Abhängigkeit von Molmasse und Substitutionsgrad<sup>19,20</sup>.*

HES-Präparat	initiale Halbwertszeit (h)
HES 130/0,4	~ 3
HES 70/0,5	~ 3
HES 200/0,5	~ 4
HES 200/0,62	~ 10

In **Tabelle 3.1-2** sind Beispiele für die Volumenwirksamkeit sowie der Dauer verschiedener HES-Präparate dargestellt.

Der Volumeneffekt ist dabei von der Anzahl der Kolloide abhängig. Je höher die Anzahl der Teilchen, desto größer ist der Volumeneffekt. Hier geht insbesondere die Molmassenverteilung ein, die aussagt, welche Molmassen in welchen Mengen in dem Präparat vorhanden sind. Gleiches gilt für die Verweildauer, wobei hier auch noch der Substitutionsgrad einen entscheidenden Einfluß hat. Eine Erhöhung des Substitutionsgrades bewirkt eine Verlängerung der Verweildauer, welche durch eine erhöhte Substitution in Position 2 noch verstärkt wird<sup>14,21,22</sup>.

<sup>18</sup> Jung, F., Koscielny, J., Mrowietz, C., Förster, H., Schimetta, W., Kiesewtter, H., Wenzel, E., „Einfluß der Molekülstruktur von Hydroxyethylstärke auf die Eliminationskinetik und die Fließfähigkeit des Blutes bei Probanden“, *Arzneim.-Forsch./Drug. Res.* 43 (1), **1993**, 99.

<sup>19</sup> Behne, M., Förster, H., Asskali, F., Thomas, H., Lischke, V., „Initiale Halbwertszeit zur Beschreibung der Pharmakokinetik von Kolloiden“, *Anästhesiol Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* 32 (Suppl 1), **1997**, 174.

<sup>20</sup> Waitzinger, J., Bepperling, F., Pabst, G., Optiz, J., Müller, M., A., Boldt, J., „Pharmacokinetics and tolerability of a new hydroxyethyl starch /HES specification [HES 130/0,4] after single-dose infusion of 6 % and 10 % solutions in healthy volunteers.“, *Clin. Drug. Invest.* 16 (2), **1998**, 151.

<sup>21</sup> Treib, J., Haaß, A., Pindur, G., Seyfert, U. T., Treib, W., Grauer, M. T., Jung, F., Wenzel, E., Schimrigk, K., „HES 200/0,5 Is not HES 200/0,5, Influence of the C2/C6 Hydroxyethylation Ratio of Hydroxyethyl Starch (HES) on Hemorheology, Coagulation and Elimination Kinetics“, *Thrombosis and Haemostasis* 74 (6), **1995**, 1452.

<sup>22</sup> Fömmel, D., Asskali, F., Förster, H., „Veränderung des Substitutionsgrades und des Substitutionsmusters von HES nach i.v. Applikation im Menschen“, in: „Volumenersatz“, *Anaesthesist* 43 (Suppl. 1), **1994**, 229.

Tabelle 3.1-2 Ausmaß und Dauer der Volumenwirksamkeit verschiedener HES-Präparate  
in Abhängigkeit von Molmasse und Substitutionsgrad<sup>17,23,24,25,26,27,28,29,30,  
31,32</sup>.

HES-Präparat	Volumenwirksamkeit	
	Ausmaß (%) <sup>*</sup>	Dauer (h)
6 % HES 130/0,4	~ 100	~ 4 – 6
6 % HES 70/0,5	~ 90	~ 2 – 4
6 % HES 200/0,5	~ 100	~ 3 – 6
10 % HES 200/0,5	~ 130	~ 3 – 6
6 % HES 200/0,62	~ 110	~ 5 – 8
6 % HES 450/0,7	~ 100	~ 5 – 8

<sup>\*</sup> Prozentangaben jeweils bezogen auf die Infusionsmenge (130%: Blutvolumenzunahme = 1,3 Fache der Infusionsmenge)

Für den klinischen Einsatz von Hydroxyethylstärke hat sich gezeigt, daß die Nierenschwelle des Präparates bei 60.000 – 70.000 g/mol liegt<sup>16,17,33,34,35</sup>. Teilweise

- <sup>23</sup> Adams, H. A., Piepenbrock, S., Hempelmann, G., „*Volumenersatzmittel – Pharmakologie und klinischer Einsatz*“, *Anästhesiol Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* 33, **1998**, 2.
- <sup>24</sup> Bergmann, H., „*Künstliche Kolloide und biologische Volumenersatzlösungen.*“, in: Ahnefeld, F. W., Bergmann, H., Kilian, J., Kubanek, B., Weißbauer, W. (Hrsg.), *Fremdblutsparende Methoden*, Springer Verlag Heidelberg, **1993**, 62.
- <sup>25</sup> Dieterich, H. J., Grohl, J., Peter, K., „*Volumenersatzlösungen*“, in: Hartig, W. (Hrsg.), „*Moderne Infusionstherapie, Künstliche Ernährung*“, Zuckschwerdt Verlag München, **1994**, 561.
- <sup>26</sup> Khosropour, R., Lachner, F., Steinbereithner, K., Watzek, Piza, F., Wagner, O., Amesberger, C., „*Vergleich der Wirkung von prä- und intraoperativ verabreichter mittelmolekularer Hydroxyäthylstärke (HÄS 200/0,5) bzw. von Dextran 40 (60) bei gefäßchirurgischen Eingriffen*“, *Anaesthesist* 29, **1980**, 616.
- <sup>27</sup> Köhler, H., Kirch, W., Pitz, H., „*Volumenzweiteffekt nach Infusion von Hydroxyäthylstärke*“, *Klin. Wochenschr.* 56, **1979**, 977.
- <sup>28</sup> Köhler, H., Zschiedrich, H., Linfante, A., Appel, F., Pitz, H., Clasen, R., „*Die Elimination von Hydroxyäthylstärke 200/0,5, Dextran 40 und Oxypolygelantine*“, *Klin. Wochenschr.* 60, **1982**, 293.
- <sup>29</sup> Kröll, W., List, W. F., „*Volumenersatz mit Kolloiden*“, *Beitr. Anaesth. Intensivmed.* 31, **1990**, 13.
- <sup>30</sup> Metcalf, W., Papadopoulos, A., Tufaro, R., Barth, A., „*A clinical physiologic study of hydroxyethyl starch*“, *Surg. Gynecol.Obstet.* 131, **1970**, 255.
- <sup>31</sup> Mortelmans, Y., Merckx, E., Nerom, C., van, Verbruggen, A., Aken, H., van, Roo, M., de, Mortelmans, L., „*Effect of an equal volume replacement with 500 mL 6 % hydroxyethyl starch on the blood and plasma volume of healthy volunteers*“, *Eur. J. Anaesth.* 12, **1995**, 259.
- <sup>32</sup> Waitzinger, J., Bepperling, F., Pabst, G., Optiz, J., Fackelmeyer, A., Boldt, J., „*Effect of a new hydroxyethyl starch (HES) specification [6% HES 130/0,4] on blood and plasma volume after bleeding in 12 healthy male volunteers.*“, *Clin. Drug. Invest.* 17 (2), **1999**, 119.

werden auch Werte von 40.000 – 70.000 g/mol diskutiert<sup>34,36</sup>. Diese kleinen Teilchen können sofort über die Niere den Organismus verlassen und sind somit kaum für die Verweildauer von Bedeutung.

Doch auch Hydroxyethylstärke ist kein idealer Ersatz für Vollblut, da es bei ihrer Verwendung zu Nebenwirkungen kommen kann. Wie schon bei den länger auf dem Markt befindlichen Substanzen Gelatine und Dextran sind Abwehrreaktionen wie z.B. anaphylaktische Reaktionen, die zum Teil ein lebensbedrohliches Ausmaß erreichen können<sup>37</sup>, oder Einlagerung im Körper zu beobachten. Wie anhand von **Tabelle 3.1-3** zu sehen ist, sind dieser Reaktionen jedoch seltener im Falle von Hydroxyethylstärke als bei Gelatine oder Dextran.

*Tabelle 3.1-3 Häufigkeit von Unverträglichkeitsreaktionen von HES, Gelatine und Dextran im Vergleich<sup>38</sup>.*

Blutersatzmittel	Häufigkeit der Unverträglichkeitsreaktionen (%)
Gelatine	bis zu 21,3
Dextran	bis zu 4,7
HES	bis zu 2,7

Von der Hydroxyethylstärke ist bekannt, daß sich hochmolekulare Anteile im reticulo-endothelialen System (RES, Teil des Infektions- und Fremdstoffabwehrsystems) ablagern<sup>35,39</sup>. Ob und inwieweit die Speicherung der Hydroxyethylstärke die Funktions-

<sup>33</sup> Sommermeyer, K., „*Neue Entwicklungen zur physikalisch-chemischen Charakterisierung von HES*“, in: „Hydroxyethylstärke – Eine aktuelle Übersicht“, Lawin, P., Zander, J., Weidler, B., Thieme Verlag Stuttgart, **1989**, 1.

<sup>34</sup> Weidler, B., Sommermeyer, K., „*Hydroxyethylstärke-Kinetik im Probandenversuch: Einfluß von Molekulargewicht, Substitution und Substitutionsposition*“, in „Hydroxyethylstärke – eine aktuelle Übersicht“, Lawin, B., Zander, J., Weidler, B. (Hrsg.), Thieme Verlag Stuttgart, **1989**, 45.

<sup>35</sup> Adams, H. A., Hempelmann, G., „*Therapie mit Volumenersatzmitteln*“, Anesthesiologie und Intensivmedizin **10**, **1991**, 277.

<sup>36</sup> Förster, H., „*Biochemische Grundlagen zur Verwendung von polymeren Kohlehydraten als Plasmaersatz*“, Beitr. Anaesth. Intensivmed. **26**, **1988**, 27.

<sup>37</sup> Laubenthal, H., „*Nebenwirkungen von Kolloiden*“, in: „Die Bedeutung der künstlichen Hydrokolloide als Ersatz von Albumin“, Anaesthesist **43** (Suppl. 1), **1994**, 11.

<sup>38</sup> Hartig, W., in: Symposiumsbericht: „*50 Jahre Dextran als kolloidaler Volumenersatz*“, Wissenschaftliche Nachrichten und Mitteilungen der Serum-Werke Bernburg AG, Heft 1, **1993/94**, 21.

<sup>39</sup> Sirtl, C., Laubenthal, H., Dieterisch, H. J., Hülger, P., Peter, K., „*Nebenwirkungen von künstlichen kolloidalen Plasmaersatzmitteln unter besonderer Berücksichtigung von Hydroxyethylstärke (HES)*“, Beitr. Anaesth. Intensivmed. **31**, **1990**, 35.

fähigkeit des RES beeinträchtigt, ist noch nicht bekannt. Des weiteren können Blutplasmaexpander auf Basis von HES einen therapieresistenten und langanhaltenden Juckreiz verursachen<sup>39</sup>. Dieser wird mit der Speicherung von Hydroxyethylstärke in Zusammenhang gebracht<sup>35,40</sup>. So wurden auch Hydroxyethylstärke-Ablagerungen in der Haut von Patienten nachgewiesen. Bei 51 % der Patienten trat der erwähnte Juckreiz auf<sup>41</sup>.

HES steht des weiteren seit Januar 2000 auf der Doping-Liste und wird im Sport vor allem zur Maskierung von Doping mit künstlichem EPO (Erythroprotein, künstliches Hormon) benutzt. EPO gilt als Modedroge im Ausdauerbereich, weil es den Sauerstofftransport im Blut und damit die Leistung verbessert<sup>42</sup>.

So ist zu sehen, daß Hydroxyethylstärke nicht das optimale Substitutionsmittel ist. Eines der Hauptprobleme ist die gegen Enzyme weitgehend stabile Etherbindung, die einen Abbau zu nierengängigen Fraktionen verhindern kann und daher zur Einlagerung von HES in das RES bewirkt<sup>43</sup>. Daher wird nach weiteren Alternativen zu Hydroxyethylstärke gesucht.

### **3.2 Acetylstärke als alternatives Blutplasmaersatzmittel**

Wie im vorangegangenen Kapitel (3.1 Hydroxyethylstärke als Blutplasmaersatzmittel) beschrieben, bringt Hydroxyethylstärke insbesondere aufgrund seiner Eigenschaft, im RES gespeichert zu werden, Nachteile mit sich. Deshalb wurde auf der Suche nach einem vollständig metabolisierbaren Ersatzmittel die Acetylstärke entwickelt. Sie soll die gleichen positiven Eigenschaften besitzen, die auch die Hydroxyethylstärke aufweist, die negativen wie auftretende anaphylaktische Reaktionen und Ablagerungen im Organismus sollen durch die Wahl der anderen Bindungsart des Substituenten unterbunden werden<sup>40</sup>.

Wie auch bei Hydroxyethylstärke liegt ein verzweigtes substituiertes Amylopektin vor, welches jedoch über Ester- und nicht über Etherfunktionen substituiert ist.

---

<sup>40</sup> Förster, H., Asskali, F., Nitsch, E., „*Metabolisierbarer Plasmaersatz*“, Offenlegungsschrift DE 41 22 999 A 1, 14.1.1993.

<sup>41</sup> [www.akadae.de/Homepage/printmed/Mitteilu/Juckreiz.html](http://www.akadae.de/Homepage/printmed/Mitteilu/Juckreiz.html), „*UAW-News – International: Hydroxyethylstärke (HES) – Juckreiz*“, Deutsches Ärzteblatt 42, 27.10.2000.

<sup>42</sup> Morgenpost, „*Der Doping-Skandal von Lathi*“, 20.2.2001

<sup>43</sup> Asskali, F., Warnken, U., Förster, H., „*Acetylstärke als Volumenersatz, eine mögliche Alternative zu HES*“, Dtsch. Med. Wschr. 126, 2001, 1.

Im Körper können Ester metabolisiert werden. So werden die Acetyl-Substituenten im Organismus durch Esterasen abgespalten. Die dabei entstehende Stärke wird durch  $\alpha$ -Amylasen abgebaut. Somit sind die Stoffwechselprodukte Glucose und Acetat<sup>44</sup>.

Das Stärkegerüst ist dem des körpereigenen Glycogens sehr ähnlich, was eine Ausbildung von Antikörpern unwahrscheinlich macht. Nach den bisherigen Erkenntnissen wird die Acetylstärke auch nicht im Organismus gelagert<sup>45,46</sup>. Bei Versuchen an Hunden konnten Acetylstärken nur in Spuren in den verschiedenen Organen nachgewiesen werden, bei Hydroxyethylstärke sind sehr viel höhere Konzentrationen vorhanden<sup>45</sup>.

Die Metabolisierung von Acetylstärke zu Acetat hat auch nach wiederholter Infusion keine negativen Auswirkungen auf den Säure-Base-Haushalt<sup>47</sup>.

Die Acetylstärke-Lösungen sind in ihrer Volumenwirksamkeit denen entsprechender Hydroxyethylstärke-Lösungen vergleichbar<sup>47,48,49,50</sup>.

Wie schon im Fall der Hydroxyethylstärke diskutiert, ist es auch bei der Acetylstärke wichtig, Molmasse und Molmassenverteilung zu kennen, da diese eng mit der Verweildauer im Organismus verbunden sind.

---

<sup>44</sup> Förster, H., „Einführung: Hydrokolloide im Vergleich mit Albumin“, *Anaesthesist* 43 (Suppl. 1), **1994**, 9.

<sup>45</sup> Asskali, F., Förster, H., „Acetyl-Stärke, Volumenersatz der Zukunft?“, in: „Die Bedeutung der künstlichen Hydrokolloide als Ersatz von Albumin“, *Anaesthesist* 43 (Suppl. 1), **1994**, 11.

<sup>46</sup> Heins, D., Kulicke, W.-M., Käuper, P., Thieking, H., „Characterization of Acetyl Starch by Means of NMR Spectroscopy and SEC/MALLS in Comparison with Hydroxyethyl Starch“, *Starch/Stärke* 50, **1998**, 431.

<sup>47</sup> Asskali, F., Warnken, U., Förster, H., „Acetylstärke als Volumenersatz, eine mögliche Alternative zu HES“, *Dtsch. Med. Wschr.* 126, **2001**, 1.

<sup>48</sup> Asskali, F., Wind, S., Moudrianakis, J., Förster, H., „Endotoxin clearance und Phagozytoseaktivität nach hochdosierter Infusion von Volumenersatzmittel (Hydroxyethylstärke, Acetylstärke, Gelatinederivat versus Ringerlactat) im Tierversuch“, in: „Volumenersatz“, *Anaesthesist* 43 (Suppl. 1), **1994**, 227.

<sup>49</sup> F. Asskali, S. Wind, J. Moudrianakis, H. Förster; „Hochdosierte Infusion von Volumenersatzmittel Hydroxyethylstärke, Acetylstärke, Gelatinederivat versus Ringerlactat-Lösung) im Tierversuch“, in: „Volumenersatz“, *Anaesthesist* 43 (Suppl. 1), **1994**, 260.

<sup>50</sup> Meier, B., Asskali, F., Abasi, Z. M., Förster, H., „Intraoperative Blutvolumenbestimmung mit Hydroxyethylstärke. – Eine einfache und schnelle Methode zur Erfassung von Blutverlusten“, in: „Volumenersatz“, *Anaesthesist* 43 (Suppl. 1), **1994**, 230.



## 4 Theoretische Grundlagen

### 4.1 Molmasse und Molmassenverteilung

Makromolekulare Substanzen unterscheiden sich von niedermolekularen Stoffen nicht nur in ihrer Größe, sondern auch in der Eigenschaft, daß sie - mit Ausnahme weniger Biopolymere wie Enzymen, Proteinen und DNA - keine einheitliche Molmasse aufweisen. Für die meisten Makromoleküle ist es daher nicht möglich, eine exakte Molmasse anzugeben. Sie liegen in Form eines Gemisches von homologen Substanzen unterschiedlicher Molmasse und Trägheitsradien vor. Die Molmasse und auch deren Verteilung im vorliegenden Polymer hängt von den Synthesebedingungen ab und bestimmt viele Eigenschaften des Polymers.

Zur Charakterisierung von Makromolekülen werden häufig Molmassenmittelwerte angegeben. Diese unterscheiden sich in ihrem Wert je nach der Bestimmungsmethode, die zur Charakterisierung des Polymers angewandt wird. Die Uneinheitlichkeit der Kettenlänge von Polymeren läßt sich anhand der Molmassenverteilung beschreiben, welche in den meisten Fällen asymmetrisch ist<sup>1</sup>. **Abbildung 4.1-1** stellt eine typische Molmassenverteilung für ein monodisperses und ein polydisperses Polymer dar.

Die Molmassenmittelwerte lassen sich je nach Bestimmungsmethode als Zahlenmittel  $M_n$ , Gewichtsmittel  $M_w$  und z-statistisches Mittel (auch Zentrifugenmittel genannt)  $M_z$  angeben. Die einzelnen Molmassenmittelwerte  $M_\beta$  ergeben sich mit der Häufigkeit  $n_i$  der Molmasse  $M_i$  nach **Gleichung 4.1-1** zu:

$$M_\beta = \frac{\sum_i n_i \cdot M_i^{\beta+1}}{\sum_i n_i \cdot M_i^\beta} \quad \text{mit} \quad \begin{array}{l} M_n : \beta = 0 \\ M_w : \beta = 1 \\ M_z : \beta = 2 \end{array} \quad \text{Gleichung 4.1-1}$$

Das Viskositätsmittel  $M_\eta$  variiert in seinem Mittelwert in Abhängigkeit vom Exponenten  $a$  der Mark-Houwink-Beziehung (siehe hierzu Kapitel 4.3 Viskosimetrie).

<sup>1</sup> Kratochvil, P., „*Classical Light Scattering from Polymer Solutions*“, Jenkins, A. D. (Hrsg.), Polymer Science Library 5, Elsevier, 1987.

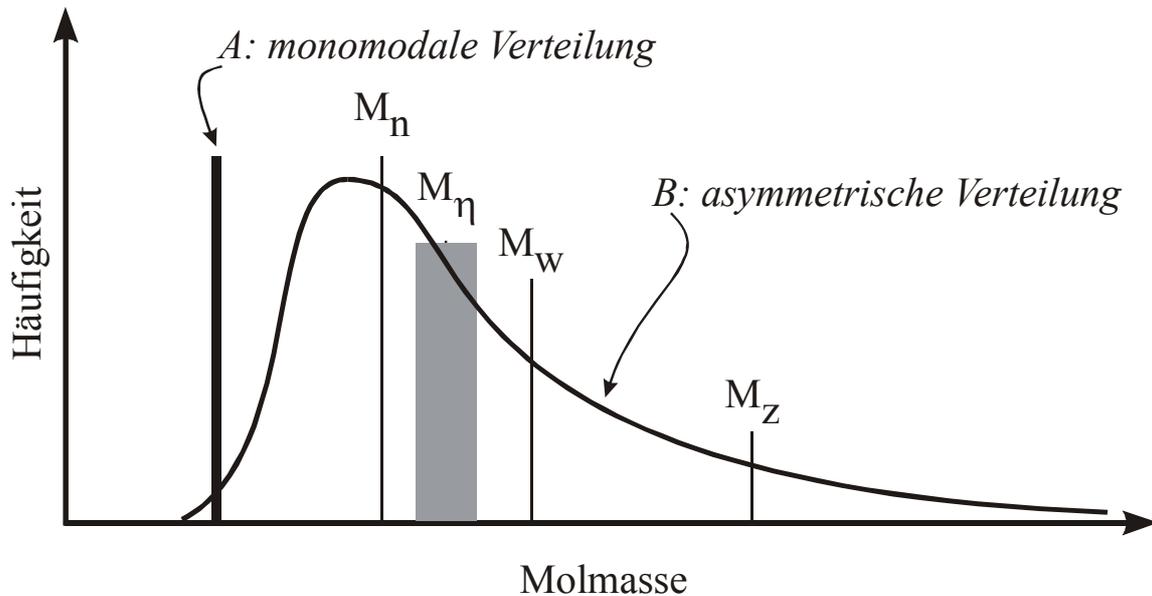


Abbildung 4.1-1 Schematische Darstellung der Molmasse und der Molmassenverteilung von A) einer monomodalen Verteilung und B) einer asymmetrischen Verteilung einer polydispersen Substanz mit Lage der Molmassenmittelwerte.

Das Zahlenmittel  $M_n$ , das beispielsweise mittels Osmometrie bestimmt wird, berücksichtigt insbesondere die kurzkettingen Moleküle der Verteilung, wohingegen die hochmolekularen Anteile beim Gewichtsmittel  $M_w$ , welches sich u.a. aus Lichtstreuungsmessungen ermitteln läßt, und beim z-statistischen Mittel  $M_z$ , durch Ultrazentrifugation bestimmbar, wesentlich stärker mit eingehen. Die Verteilungsbreite läßt sich mit Hilfe der Polydispersität beschreiben, die als Quotient aus Gewichtsmittel und Zahlenmittel  $M_w/M_n$  definiert ist. Die Polydispersität wird häufig auch als Einheitlichkeit bezeichnet. Die ebenfalls oft verwendete Uneinheitlichkeit ergibt sich aus dem Quotienten von Gewichts- und Zahlenmittel minus eins:  $M_w/M_n - 1$ . Ist der Quotient, d.h. die Polydispersität eins, liegt keine Verteilung vor und die Probe ist monodispers.

Die Bestimmung der Molmasse kann mit Hilfe unterschiedlicher Methoden erfolgen, wobei zwischen drei Arten von Methoden unterschieden wird: Relativ-, Äquivalent- und Absolutmethoden.

Relativmethoden benötigen Kalibrierbeziehungen, mit deren Hilfe von einer bekannten Substanz auf die Molmasse der Probe geschlossen werden kann. Gemessen werden physikalische Eigenschaften, welche die Molmasse indirekt beeinflussen. Dabei werden

verschiedene Voraussetzungen gemacht, wie etwa sehr ähnliche chemische und physikalische Eigenschaften von Kalibrier- und Probensubstanz. Die Größenausschlußchromatographie stellt für sich genommen eine Relativmethode zur Bestimmung der Molmasse dar, ebenso die Viskosimetrie.

Äquivalentmethoden, wie beispielsweise die Endgruppenbestimmung, setzen die Kenntnis der chemischen Struktur voraus.

Im Falle der Absolutmethoden müssen keine Annahmen über die zu untersuchende Substanz gemacht werden. Die gewünschten Werte lassen sich aus den Meßgrößen direkt berechnen. Zu den Absolutmethoden zählen die Membranosmometrie<sup>2</sup>, die Lichtstreuung und die Ultrazentrifugation<sup>3</sup>.

Die verschiedenen Methoden und die sich daraus ergebenden Molmassenmittelwerte sind in **Tabelle 4.1-1** zusammengestellt.

Die Auftragung der Molmassenverteilung, d.h. die Angabe, wie hoch der jeweilige Massenanteil  $w_i$  einer bestimmten Molmasse  $M_i$  an der gesamten Masse  $W$  der Probe ist, kann entweder kumulativ oder differentiell erfolgen. Die kumulative (auch integrale) Molmassenverteilung  $W(M)$  gibt an, wie hoch der Massenanteil der Molmasse ist, die kleiner als  $M$  sind. Für den kumulativen Massenanteil  $W(M)$  gilt **Gleichung 4.1-2**.

$$W(M) = \frac{\sum_{M_i < M} c_i}{\sum_{M_i} c_i} \qquad \text{Gleichung 4.1-2}$$

Dabei ist  $c_i$  die jeweils ermittelte Konzentration des Probenanteils mit der Molmasse  $M_i$ . Der maximal erreichbare Wert ist eins.

Die differentielle Verteilung  $w(M)$  gibt den Massenanteil einer Fraktion der Molmasse  $M_i$  an der gesamten Masse  $M$  an. Sie kann aus der kumulativen Molmasse  $W(M)$  durch Differenzieren nach  $d(M)$  erhalten werden. Da die Auftragung meist logarithmisch erfolgt, ist es für eine bessere Vergleichbarkeit eine Differenzierung nach  $d(\log M)$  sinnvoll. Für die differentielle Auftragung gilt **Gleichung 4.1-3**.

---

<sup>2</sup> Mächtle, W., in: „Analytical Ultracentrifugation in Biochemistry and Polymer Science“, Harding, S. E. (Hrsg.), Royal Society of Chemistry Cambridge, **1992**.

<sup>3</sup> Römpp Chemie Lexikon, Version 2.00, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1995**.

$$w(M) = \frac{dW(M)}{d(\log M)} \quad \text{Gleichung 4.1-3}$$

Die Gleichung gibt für jede Masse  $M_i$  den jeweiligen Anteil an der gesamten Masse  $W$  wieder.

*Tabelle 4.1-1 Methoden zur Molmassenbestimmung mit den entsprechenden ermittelten Molmassenmittelwerten.*

Methode	Molmassenmittelwert
Relativmethoden	
Viskosimetrie	$M_\eta$
Größenausschlußchromatographie	$M_{SEC}$
Äquivalentmethoden	
Endgruppenbestimmung	$M_n$
Absolutmethoden	
Osmometrie	$M_n$
Ebulioskopie	$M_n$
Kryoskopie	$M_n$
Streulichtmessungen	$M_w$
Ultrazentrifugation	$M_z$

## 4.2 Lösungsstruktur von Polymeren

Neben der Molmasse und deren Verteilung ist auch die Gestalt eines Polymeren in Lösung maßgeblich für seine Eigenschaften. Dabei hängt die Lösungsstruktur neben dem chemischen Aufbau der Substanz (Monomerlänge, Bindungswinkeln, Ladungen, Verzweigungen, Seitenketten, Polymerisationsgrad) auch von äußeren Bedingungen ab<sup>4</sup>. Die äußeren, also polymer-unabhängigen Einflußgrößen sind im wesentlichen das Lösungs-

<sup>4</sup> Vollmert, B., „Grundriß der Makromolekularen Chemie“, E. Vollmert Verlag Karlsruhe, 1979.

mittel sowie die Temperatur und die Konzentration des Polymeren in Lösung. In **Abbildung 4.2-1** sind mögliche Lösungszustände von Polymeren in Lösung dargestellt.

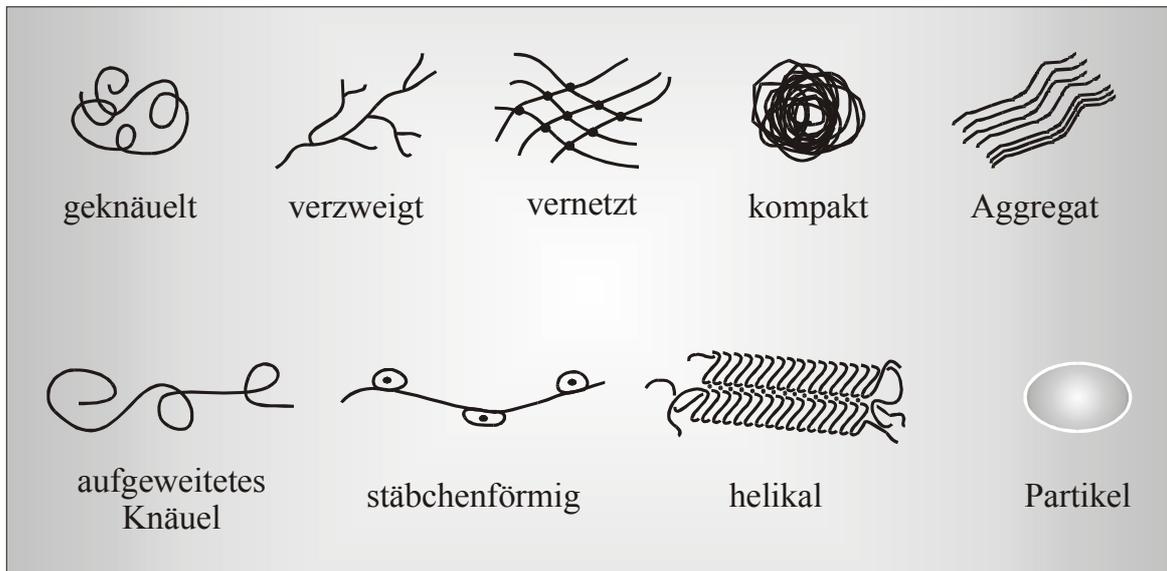


Abbildung 4.2-1 Verschiedene mögliche Lösungsstrukturen von Polymeren.

Neben den in der Abbildung dargestellten irreversiblen Zusammenlagerungen, den sogenannten Aggregaten, gibt es noch die reversiblen Zusammenlagerungen, die Assoziat.

Zur Beschreibung der Größe von Teilchen werden in Abhängigkeit ihrer geometrischen Form unterschiedliche Parameter verwendet. Bei Partikeln mit fest vorgegebener Form wie etwa Kugeln verwendet man den Radius, bei Scheibchen den Durchmesser und bei dünnen, starren Stäbchen die Länge. Kettenförmige Polymere hingegen haben keine fest vorgegebene Form, sie nehmen häufig einen Zustand ein, der als statistisches Knäuel bezeichnet wird. Dabei kann das Polymer mit einer hinreichend großen Anzahl an Monomereinheiten verschiedene Konformationen gleicher potentieller Energie einnehmen. Die Beschreibung der verwendeten Meßgrößen liefert somit zeitliche Mittelwerte der verschiedenen Konformationen<sup>5</sup>. Die Molekülgestalt wird u.a. über die zeitlichen Mittelwerte des Fadenendabstandes  $h$  oder des Trägheitsradius  $R_G$  beschrieben<sup>6,7</sup>.

<sup>5</sup> Flory, P. J., „Die Konformation linearer Moleküle (Nobel-Vortrag)“, *Angew. Chem.* 22, **1975**, 787.

<sup>6</sup> Elias, H. G., „Makromoleküle: Struktur, Eigenschaften, Synthesen, Stoffe, Technologie“, 4. Aufl., Hüttig und Wepf Verlag Heidelberg, **1981**.

<sup>7</sup> Wyatt Technology, Unterlagen zum Userforum „GPC-LS-Kopplung: Grundlagen und Praxis“, **1999**.

Der Fadenendabstand  $\sqrt{h^2}$  – auch als End-zu-End-Abstand bezeichnet – beschreibt, wie weit im zeitlichen Mittel Anfang und Ende einer makromolekularen Ketten voneinander entfernt sind. Damit ist diese Angabe nur bei Molekülen mit definierten Anfang und Ende sinnvoll, schon bei verzweigten Systemen ist seine Aussagekraft stark eingeschränkt.

Der sogenannte Trägheitsradius  $R_G$  ist ein anderer Parameter zur Beschreibung der Molekülgestalt von Polymeren. Mit Hilfe dieses Mittelwertes können die Moleküldimensionen unabhängig vom Aufbau, wie z.B. von Verzweigungen angegeben werden. Zur Definition wird das Makromolekül in kleine Einheiten gleicher Masse  $m_i$  eingeteilt (i.a. die Monomerbausteine), wobei über alle Abstände  $r_i$  des Masseschwerpunktes gemittelt wird. Damit folgt für den Trägheitsradius die Definition nach **Gleichung 4.2-1**.

$$\langle R_G^2 \rangle^{1/2} = \left( \frac{\sum_i m_i r_i^2}{\sum_i m_i} \right)^{1/2} = \left( \frac{1}{M} \cdot \sum_i m_i r_i^2 \right)^{1/2} \quad \text{Gleichung 4.2-1}$$

Der Trägheitsradius ist der Radius eines Makromoleküls gleichem Trägheitsmomentes wie das betrachtete Makromolekül, bei dem jedoch alle Einheiten des Moleküls auf einer Kugelschale vorliegen.

Für lineare Polymere im  $\theta$ -Zustand kann nach **Gleichung 4.2-2** ein einfacher linearer Zusammenhang zwischen Fadenendabstand  $h$  und Trägheitsradius  $R_G$  aufgestellt werden.

$$R_G^2 = \frac{1}{6} h^2 \quad \text{Gleichung 4.2-2}$$

Im  $\theta$ -Zustand sind die Wechselwirkungen zwischen den Polymeren, den Polymersegmenten und zwischen Polymer und Lösungsmittel im Gleichgewicht. Das Polymer liegt somit kräftefrei vor.

Treten zwischen Polymer und Lösungsmittel Kräfte auf, so können diese Wechselwirkungen mittels des sogenannten Aufweitungsparameter  $\varepsilon$  berücksichtigt werden. Der Zusammenhang zwischen Fadenendabstand  $h$  und Trägheitsradius  $R_G$  ergibt sich dann aus **Gleichung 4.2-3**.

$$h = R_G \cdot \sqrt{6 + 5\varepsilon + \varepsilon^2} \quad \text{Gleichung 4.2-3}$$

Im  $\theta$ -Zustand gilt für den Aufweitungsparameter  $\varepsilon = 0$ , für thermodynamisch gute Lösungsmittel wird  $\varepsilon$  größer eins und das Polymerknäuel liegt aufgeweitet vor. Thermodynamisch schlechte Lösungsmittel weisen einen Aufweitungsparameter  $\varepsilon$  von kleiner eins auf und das Polymer liegt gegenüber dem  $\theta$ -Zustand geschrumpft vor.

Der Zusammenhang zwischen dem Trägheitsradius  $R_G$  und der Molmasse  $M$  kann über die  $R_G$ - $M$ -Beziehung (**Gleichung 4.2-4**) beschrieben werden.

$$R_G = k_{R_G} \cdot M^\nu \quad \text{Gleichung 4.2-4}$$

$k_{R_G}$  ist eine substanzspezifische Konstante.

Der Exponent  $\nu$  dieser Beziehung ist eine wichtige Größe zur Beschreibung der Lösungsgestalt von Polymeren. Der theoretische Wert des Exponenten  $\nu$  liegt zwischen den Extremen  $1/3$  für eine Vollkugel und  $1$  für ein dünnes, starres Stäbchen. Für flexible, ungestörte Polymerknäule in  $\theta$ -Zustand nimmt der Exponent  $\nu$  einen Wert von  $0,5$  an. Mit zunehmender thermodynamischer Lösungsmittelgüte nimmt der Exponent  $\nu$  zu, für thermodynamisch schlechte Lösungsmittel gilt das umgekehrte. Zwischen dem Exponenten  $\nu$  und dem Aufweitungsparameter  $\varepsilon$  gilt nach **Gleichung 4.2-5** der folgende Zusammenhang.

$$\varepsilon = 2\nu - 1 \quad \text{Gleichung 4.2-5}$$

Je kleiner der Exponent  $\nu$ , desto kompakter ist das Teilchen und desto besser ist die Raumauffüllung. Damit ist  $\nu$  nicht nur für die Geometrie, sondern auch für die Segmentdichte der Teilchen bestimmend. Bei verzweigten Polymeren hat  $\nu$  im Vergleich zu linearen Molekülen einen kleineren Wert und die Aussagekraft von  $\nu$  bezüglich der Gestalt ist nicht mehr so groß. Auch bei aggregierten und assoziierten Teilchen wird aufgrund der höheren Segmentdichte der Exponent  $\nu$  der  $R_G$ - $M$ -Beziehung kleiner als es bei linearen Molekülen zu erwarten wäre.

In **Abbildung 4.2-2** ist der Zusammenhang zwischen dem Trägheitsradius  $R_G$  und der Molmasse  $M$  in einer doppellogarithmischen Darstellungsweise aufgezeigt. Der Exponent  $\nu$  dieser  $R_G$ - $M$ -Beziehung ergibt sich direkt aus der Steigung der Geraden.

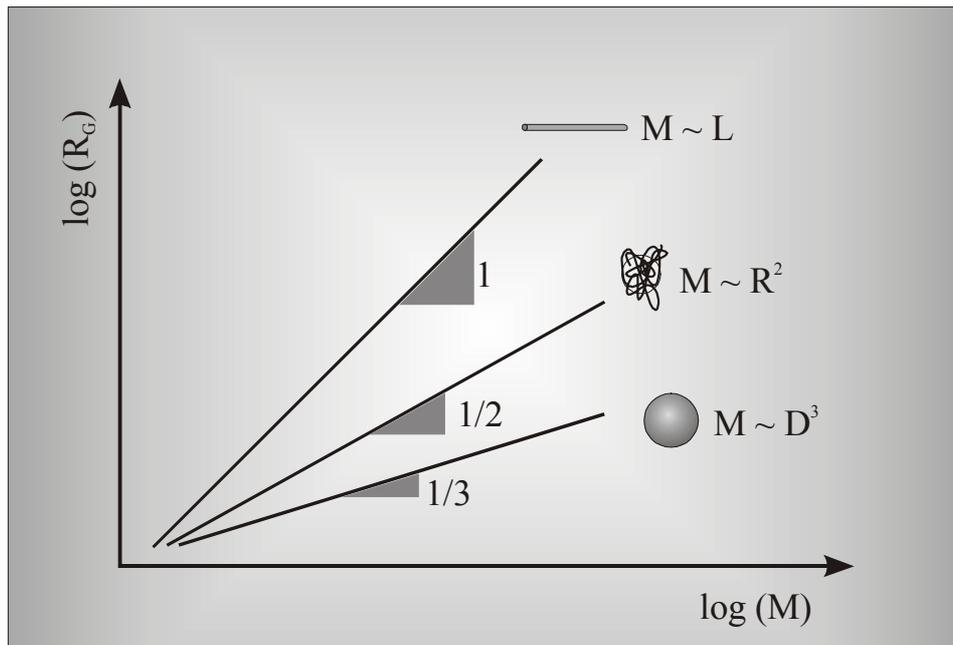


Abbildung 4.2-2 Einfluß der Molekülgestalt auf den Exponenten  $\nu$  der  $R_G$ - $M$ -Beziehung. Dargestellt sind die Beziehungen für unendlich dünne Stäbchen der Länge  $l$ , Knäule im  $\theta$ -Zustand mit dem Radius  $R$  und homogene Vollkugeln mit dem Durchmesser  $D$ .

Bei der Betrachtung realer Polymere, die als Mischungen homologer Reihen vorliegen, müssen auch die Werte des Fadenendabstandes  $h$  und des Trägheitsradius  $R_G$  gemittelt werden. Auch hier wird zwischen Zahlen-, Gewichts- und z-statistischen Mittel unterschieden.

Ein weiterer Parameter zur Beschreibung der Volumenbeanspruchung stellt der hydrodynamische Radius  $R_H$  dar. Dieser entspricht dem Radius einer Kugel mit vergleichbaren hydrodynamischen Eigenschaften. Im Gegensatz zu dem Trägheitsradius  $R_G$ , bei dem die weiter entfernten Segmente des Polymers stärker gewichtet werden, wird der hydrodynamische Radius  $R_H$  durch die kurzen Intersegmentabschnitte bestimmt und der hydrodynamische Radius ist über die reziprok gemittelten Abstände gemäß **Gleichung 4.2-6** definiert. Durch diesen Unterschied können sich der Trägheitsradius  $R_G$  und der hydrodynamische Radius  $R_H$  um einen Faktor von 2 unterscheiden.

$$R_H = \left( \frac{1}{M} \cdot \sum_i m_i r_i^{-1} \right)^{-1} \quad \text{Gleichung 4.2-6}$$

Hier stellt  $r_i$  den Abstände zwischen den einzelnen Segmenten der Masse  $m_i$  dar.

Verschiedene Meßmethoden wie die Viskosimetrie und die Querflußfraktionierung machen den hydrodynamischen Radius  $R_H$  zugänglich, ergeben aber auch leicht unterschiedliche Ergebnisse. Die Bestimmung des hydrodynamischen Radius mit Hilfe der Querflußfraktionierung liefert durch den Diffusionskoeffizienten  $D$  über die Stokes-Gleichung den hydrodynamischen Radius  $R_{HD}$ , wobei viskosimetrische Messungen über den Staudinger-Index  $[\eta]$  den sogenannten Einstein-Radius  $R_{H\eta}$  ergeben. In verdünnten Lösungen gelten für die beiden hydrodynamischen Radien Zusammenhänge der **Gleichung 4.2-7** und **8**.

$$R_{HD} = \frac{k_B \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot D} \quad \text{Gleichung 4.2-7}$$

$$\text{mit } D = \frac{\langle \Delta x^2 \rangle}{2 \cdot \Delta t}$$

$$R_{H\eta} = \sqrt[3]{\frac{3 \cdot M \cdot [\eta]}{10 \cdot \pi \cdot N_A}} \quad \text{Gleichung 4.2-8}$$

Hierbei ist  $k_B \cdot T$  die thermische Energie und  $\eta$  die Lösungsmittelviskosität. Der Diffusionskoeffizient  $D$  ist proportional dem Quadrat der zurückgelegten Wegstrecke  $\langle \Delta x^2 \rangle$  und der dafür benötigten Zeit  $\Delta t$ . Über die Avogadro-Konstante  $N_A$  geht die Anzahl der Teilchen in Gleichung 4.2-8 mit ein. Für kompakte Körper sind beide hydrodynamischen Radien  $R_{HD}$  und  $R_{H\eta}$  gleich. Bei Knäueln ist der Wert von  $R_{HD}$  ca. 10 % größer als der von  $R_{H\eta}$ . Dieser Unterschied liegt möglicherweise darin begründet, daß bei der Viskosimetrie die Translation durch Drehbewegungen überlagert wird.

Die Viskosimetrie liefert mit dem Staudinger-Index  $[\eta]$  und der Molmasse  $M$  über die Mark-Houwink-Beziehung (**Gleichung 4.2-9**) - wie auch die  $R_G$ - $M$ -Beziehung - einen Zusammenhang zwischen Polymergröße und Lösungsstruktur.

$$[\eta] = k_\eta \cdot M^a \quad \text{Gleichung 4.2-9}$$

Der Exponent  $a$  beschreibt die Aufweitung des Moleküls und kann Werte zwischen 0 für eine kompakte Vollkugel und 2 für ein dünnes, starres Stäbchen annehmen. Mit Hilfe der

Fox-Flory-Theorie<sup>8</sup> lassen sich  $R_G$ -M-Beziehung und  $[\eta]$ -M-Beziehung ineinander umrechnen. Dabei sind die Exponenten  $a$  und  $\nu$  über **Gleichung 4.2-10** und die Proportionalitätsfaktoren  $k_\eta$  und  $k_G$  über **Gleichung 4.2-11** miteinander verknüpft.

$$a = 3\nu - 1 \quad \text{Gleichung 4.2-10}$$

$$k_{[\eta]} = k_{R_G}^3 \cdot \Phi \quad \text{Gleichung 4.2-11}$$

$$\text{mit } \Phi = \Phi_0 \cdot (1 - 2,63 \cdot \varepsilon + 2,86 \cdot \varepsilon^2)$$

In dieser Arbeit wird mit der Fox-Flory-Konstanten  $\Phi_0 = 3,69 \cdot 10^{24} \text{ mol}^{-1}$  nach Yamakawa<sup>9</sup> für ungeladene Teilchen gerechnet.

**Tabelle 4.2-1** gibt eine Übersicht über die Formfaktoren  $\nu$  und  $a$  sowie für den Aufweitungparameter  $\varepsilon$  für ausgewählte Konformationen.

*Tabelle 4.2-1 Formfaktoren  $\nu$  und  $a$  sowie der Aufweitungparameter  $\varepsilon$  für einige ausgewählte Konformationen.*

Konformation	$\nu$	$a$	$\varepsilon$
kompakte Kugel	1/3	0	- 1/3
Polymerknäuel im $\theta$ -Zustand	1/2	1/2	0
teilweise gestrecktes Knäuel	$1/2 < \nu < 2/3$	$1/2 < a < 1$	$0 < \varepsilon < 1/3$
vollständig gestrecktes „Knäuel“	2/3	1	1/3
semiflexibles Stäbchen	$2/3 < \nu < 1$	$1 < a < 2$	$1/3 < \varepsilon < 1$
Stäbchen	1	2	1

### 4.3 Viskosimetrie

Die Viskosimetrie ist eine relativ einfache, klassische Methode zur Charakterisierung von Makromolekülen in Lösung, die es erlaubt, ohne großen apparativen Aufwand wichtige hydrodynamische Größen zu bestimmen.

Im vorherigen Abschnitt (Kapitel 4.2 Lösungsstruktur von Polymeren) wurde schon bei der Beschreibung des hydrodynamischen Radius  $R_H$  auf Beziehungen, die sich aus vis-

<sup>8</sup> Flory, J. P., Fox, T. G., „*Treatment of Intrinsic Viscosities*“, J. Am. Chem. Soc. 73, **1951**, 1904.

<sup>9</sup> Yamakawa, H., „*Modern Theory of Polymer Solutions*“, Harpers and Row New York, **1971**.

kosimetrischen Messungen ergeben, eingegangen. In diesem Kapitel werden die Zusammenhänge detailliert beschrieben.

Die Viskosität einer Polymerlösung  $\eta_{Lsg}$  ist deutlich höher als die des reinen Lösungsmittels  $\eta_{LM}$ . Für lineare Moleküle läßt sich empirisch eine Beziehung zwischen der Lösungsviskosität und der Molmasse herstellen<sup>10</sup>. Der Viskositätsanstieg der Lösung gegenüber dem reinen Lösungsmittel wird nach Einstein<sup>11</sup> durch die relative Viskosität  $\eta_{rel}$  beschrieben. Diese hängt in einer Lösung von dem Verhältnis  $\Phi$  des Volumens der gelösten Polymere zum Gesamtvolumen der Lösung ab. Der Zusammenhang läßt sich nach **Gleichung 4.3-1** beschreiben.

$$\eta_{rel} = \frac{\eta_{Lsg}}{\eta_{LM}} = 2,5 \cdot \Phi + 1 \quad \text{Gleichung 4.3-1}$$

mit  $\Phi = \frac{\text{Volumen der gelösten Makromoleküle}}{\text{Volumen der Lösung}} = \frac{m / \rho_{\text{äqu}}}{V} = \frac{c}{\rho_{\text{äqu}}}$

Die Masse  $m$  ist die Masse eines Polymeren und  $\rho_{\text{äqu}}$  die Dichte des leeren Polymerknäuels ohne Lösungsmittel.  $c$  ist die Polymerkonzentration, die sich aus der Polymermasse pro Volumenelement der Lösung  $m/V$  ergibt.

Damit läßt sich die relative Viskosität  $\eta_{rel}$  nach **Gleichung 4.3-2** beschreiben:

$$\eta_{rel} = 2,5 \cdot \frac{c}{\rho_{\text{äqu}}} + 1 \quad \text{Gleichung 4.3-2}$$

Über die relative Viskosität ist die spezifische nach **Gleichung 4.3-3** definiert.

$$\eta_{spez} = \eta_{rel} - 1 \quad \text{Gleichung 4.3-3}$$

Diese Zusammenhänge gelten nur für sich gegenseitig nicht beeinflussende Teilchen, also nur bei sehr geringen Konzentrationen nahe Null. Daher wird in der Praxis mit großen Verdünnungen gearbeitet und die experimentell ermittelten Daten werden in einem Diagramm  $\eta_{spez}/c$  gegen die Konzentration  $c$  aufgetragen und gegen unendliche Verdün-

---

<sup>10</sup> Kulicke, W.-M. (Hrsg.), „*Fließverhalten von Stoffen und Stoffgemischen*“, Hüthig und Wepf Heidelberg, **1986**.

<sup>11</sup> Einstein, A., „*Eine neue Bestimmung der Moleküldimension*“, Ann. Phys. 19, **1906**, 289.

nung  $c \rightarrow 0$  extrapoliert. Der so erhaltenen Grenzwert  $[\eta]$  (**Gleichung 4.3-4**) wird als Staudinger-Index bezeichnet. Er ist ein Maß für die Volumenbeanspruchung eines ungestörten Einzelmoleküls.

$$\lim_{\substack{c \rightarrow 0 \\ \dot{\gamma} \rightarrow 0}} \frac{\eta_{spez}}{c} = [\eta] \quad \text{Gleichung 4.3-4}$$

Wie aus der Gleichung 4.3-4 ersichtlich ist, muß auch die Schergeschwindigkeit  $\dot{\gamma}$  berücksichtigt werden. Hochmolekulare Moleküle können aufgrund starker Scherfelder, die durch hohe Schergeschwindigkeiten aufgebaut werden, degradiert werden.

Im Bereich kleiner Konzentrationen besteht in der Regel ein linearer Zusammenhang zwischen  $\eta_{spez}/c$  und der Konzentration  $c$ . Die Steigung der sich ergebenden Geraden kann durch die empirische Potenzreihe, die nach dem zweiten Glied abgebrochen wird, nach Huggins beschrieben werden<sup>12</sup> (**Gleichung 4.3-5**).

$$\frac{\eta_{spez}}{c} = [\eta] + k_H \cdot [\eta]^2 \cdot c \quad \text{Gleichung 4.3-5}$$

Der Staudinger-Index  $[\eta]$  für ein bestimmtes Polymer-Lösungsmittel-System kann bei Kenntnis der Huggins-Konstanten  $k_H$  aus einer einzigen Messung ermittelt werden.

Die Mark-Houwink-Beziehung beschreibt quantitativ den Zusammenhang zwischen der Molmasse  $M$  und dem Staudinger-Index  $[\eta]$  (**Gleichung 4.3-6**).

$$[\eta] = k_\eta \cdot M^a \quad \text{Gleichung 4.3-6}$$

Diese Beziehung ist von dem Polymeren, der Temperatur, dem Lösungsmittel und der Molmassenverteilung der Substanz abhängig. Wie schon in Kapitel 4.2 Lösungsstruktur von Polymeren beschrieben, hängt der Exponent  $a$  von der Gestalt des Polymeren in Lösung ab.

Basierend auf dem Einsteinschen Gesetz läßt sich aus dem Staudinger-Index  $[\eta]$  auf die kritische Konzentration  $c_{[\eta]}^*$  zurückschließen (**Gleichung 4.3-7**). Die kritische

---

<sup>12</sup> Elias, H. G., „*Makromoleküle: Struktur, Eigenschaften, Synthesen, Stoffe, Technologie*“, 4.Aufl., Hüttig und Wepf Verlag Heidelberg, 1981.

Konzentration  $c^*$  gibt an, ab welcher Konzentration die Teilchen einer Lösung nicht mehr als unabhängig voneinander angesehen werden können, sie also beginnen, sich zu berühren und durchdringen.

$$c_{[\eta]}^* = \rho_{\text{aqu}} \cdot 100 = \frac{2,5}{[\eta]} \quad \text{Gleichung 4.3-7}$$

#### 4.4 Der zweite Virialkoeffizient

Für Polymere in Lösung stellt der zweite Virialkoeffizient  $A_2$  eine thermodynamisch wichtige Größe dar. Er beschreibt die Wechselwirkungen zwischen zwei gelösten Polymeren und zwischen Polymer und Lösungsmittel<sup>13,14</sup>. Damit ist er ein Maß für die thermodynamische Güte des Lösungsmittels. Je größer der Wert von  $A_2$  wird, desto besser ist die Güte des Lösungsmittels einzuschätzen. Dabei ist der zweite Virialkoeffizient  $A_2$  in der Regel eine fallende Funktion der Molmasse  $M$ . In der Praxis zeigt sich, daß niedermolekulare Substanzen im gleichen Lösungsmittel leichter löslich sind als höhermolekulare der gleichen chemischen Zusammensetzung und Konfiguration. Ab einen genügend hohen Polymerisationsgrad gilt nach **Gleichung 4.4-1** der Zusammenhang zwischen dem zweiten Virialkoeffizienten  $A_2$  und der Molmasse  $M$ .

$$A_2 = a \cdot M^{-b} \quad \text{Gleichung 4.4-1}$$

Dabei sind die Konstanten  $a$  und  $b$  dieser Gleichung empirisch zu ermitteln. Der Wert für die Konstante  $b$  liegt in der Regel zwischen 0,15 und 0,35<sup>15</sup>.

Für Lösungen polydisperser Stoffe wechselwirken makromolekulare Teilchen unterschiedlicher Molmasse miteinander. Daher muß der ermittelte Wert von  $A_2$  als Mittelwert aufgefaßt werden.

---

<sup>13</sup> Kratochvil, P., „*Classical Light Scattering from Polymer Solutions*“, Jenkins, A. D. (Hrsg.), Polymer Science Library 5, Elsevier, **1987**.

<sup>14</sup> Wyatt Technology, Unterlagen zum Userforum „*GPC-LS-Kopplung: Grundlagen und Praxis*“, **1999**.

<sup>15</sup> Nishinari, K., Kohyama, K., Williams, P. A., Phillips, G. O. Burchard, W., Ogino, K., „*Solution Properties of Pullulan*“, *Macromolecules* 24, **1991**, 5590.

## 4.5 Das Brechungsindexinkrement

Der Brechungsindex  $n$  einer Lösung ändert sich in Abhängigkeit der Konzentration  $c$  des gelösten Stoffes, diese Abhängigkeit wird durch das Brechungsindexinkrement ( $dn/dc$ ) beschrieben. Es ist für jedes Polymer-Lösungsmittel-System charakteristisch. Für die Bestimmung der Molmasse  $M$  ist es von entscheidender Bedeutung, da es in die allgemeine Lichtstreugleichung (siehe Kapitel 4.6 Lichtstreuung) eingeht. Für kleine Konzentrationen ab ca.  $2 \cdot 10^{-2}$  g/ml ist das Brechungsindexinkrement ( $dn/dc$ ) unabhängig von der Konzentration des gelösten Stoffes. Eine Abhängigkeit des Brechungsindexinkrementes ( $dn/dc$ ) von der Konzentration  $c$  wird in der Literatur<sup>16</sup> nur für den Bereich kleiner Molmassen von wenigen 1000 g/mol beschrieben. Für Molmassen ab ca. 20.000 g/mol kann es als konstant angesehen werden<sup>17</sup>. Mit dem Brechungsindex  $n$  der Lösung ist es in Abhängigkeit von dem Brechungsindex des reinen Lösungsmittel  $n_0$  linear über **Gleichung 4.5-1** verbunden. Mathematisch ergibt sich das Brechungsindexinkrement aus der Steigung der Auftragung der Brechungsindices  $n$  gegen die Konzentration  $c$ .

$$n = n_0 + \left( \frac{dn}{dc} \right) \cdot c \quad \text{Gleichung 4.5-1}$$

Das Brechungsindexinkrement ist eine Funktion der Wellenlänge  $\lambda$ , der Temperatur  $T$  und des Druckes  $p$ . Je größer der Wert des Brechungsindexinkrementes ( $dn/dc$ ), desto stärker ist auch die Streuintensität des Polymeren. Mit sinkender Wellenlänge steigt der Wert des Brechungsindexinkrementes ( $dn/dc$ ) an. Seine Werte liegen typischerweise zwischen 0,1 und 0,2 cm<sup>3</sup>/g<sup>18</sup>.

Damit kann bei bekannten Brechungsindexinkrement ( $dn/dc$ ) die Konzentration eines Polymeren in Lösung ermittelt werden. Das Polymer Handbook<sup>19</sup> liefert eine Zusammenstellung verschiedener Brechungsindexinkremente für unterschiedliche Polymer-Lösungsmittel-Systeme. Dabei sind allerdings hauptsächlich Daten von organischen Lösungs-

<sup>16</sup> Kniewke, R., Kulicke, W.-M., „*Study on the Molecular Weight Dependence of Dilute Solution Properties of Narrowly Distributed Polystyrene in Toluene and in the Unperturbed State*“, Makomol. Chem. 184, **1983**, 2173.

<sup>17</sup> Mori, S., Barth, H. G., „*Size Exclusion Chromatography*“, Springer Berlin, **1999**.

<sup>18</sup> Kratochvil, P., „*Classical Light Scattering from Polymer Solutions*“, Jenkins, A. D. (Hrsg.), Polymer Science Library 5, Elsevier, **1987**.

<sup>19</sup> Brandrup, J., Immergut, E. H., „*Polymer Handbook*“, Grulke, E. A.: (Hrsg.), Wiley & Sons Inc. New York, 4. Aufl., **1999**.

mittel-Systemen angegeben. Für wäßrige Systeme muß meist eine Bestimmung des Brechungsindexinkrementes durchgeführt werden. Hierfür wird meist das sogenannte Treppenzugverfahren angewendet, bei dem eine Konzentrationsreihe des zu untersuchenden Polymer-Lösungsmittel-Systems vermessen wird.

Als Konzentrationsdetektoren auf Basis der Brechungsindexinkrementes werden entweder Differentialrefraktometer oder Interferometer verwendet. Diese Detektortypen arbeiten nach unterschiedlichen Systemen.

Der Aufbau des Differentialrefraktometers ist in **Abbildung 4.5-1** dargestellt. Es besteht aus einer Lichtquelle und einer Meßzelle, welche in zwei Halbzellen aufgeteilt ist. In einer Hälfte der Zelle befindet sich das reine Lösungsmittel, in der anderen das Proben-Lösungsmittel-Gemisch. Gemessen wird die Ablenkung des Lichtstrahls zu einem Referenzstrahl, wobei die Ablenkung proportional zur Differenz der Brechungsindices  $\Delta n$  ist.

Im Falle des Interferometers ist der Aufbau und das Meßprinzip etwas anders. Ein Interferometer besteht - wie in **Abbildung 4.5-2** zu sehen - aus einer Lichtquelle, die monochromatisches, polarisiertes Licht liefert, einem Wollaston-Prisma, in dem der Lichtstrahl in zwei Strahlen gleicher Intensität geteilt wird, aus einer Meß- und einer Referenzzelle, einem weiteren Wollaston-Prisma, in dem die beiden Strahlen wieder zusammengeführt werden und einem Detektor. Beim Durchdringen der Proben- und der Meßzelle erfahren die beiden Strahlen eine Phasendifferenz, da sie unterschiedlich lange optische Weglängen zurücklegen. Die Wellenlänge ändert sich jedoch nicht. Dadurch sind die beiden Strahlen interferenzfähig und nach Zusammenführen der Strahlen kommt es zu sinusförmigen Änderungen der Intensität des detektierten Lichtes. Diese Intensitätsänderungen sind proportional zur Differenz der Brechungsindices  $\Delta n$ <sup>20</sup>.

---

<sup>20</sup> Wyatt Technology, Unterlagen zum Userforum „*GPC-LS-Kopplung: Grundlagen und Praxis*“, 1999.

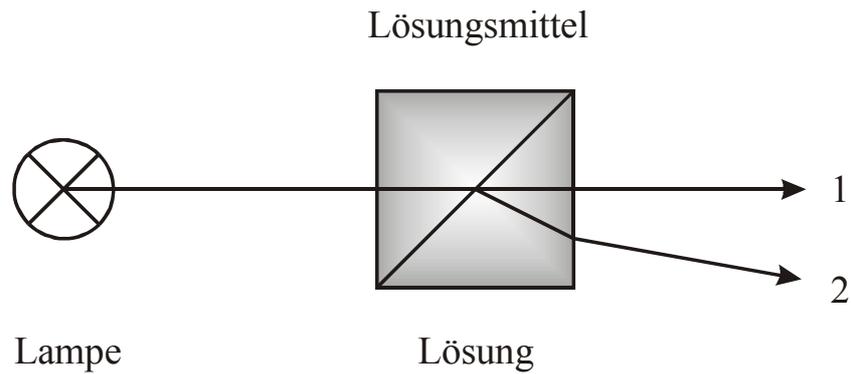


Abbildung 4.5-1 Schematische Darstellung eines Differentialrefraktometers, bestehend aus einer Lichtquelle und einer zweigeteilten Meßzelle mit Probenlösung und Lösungsmittel. Die Ablenkung des Meßstrahls 2 gegenüber dem Referenzstrahl 1 ist proportional zur Differenz des Brechungsindices  $\Delta n$ .

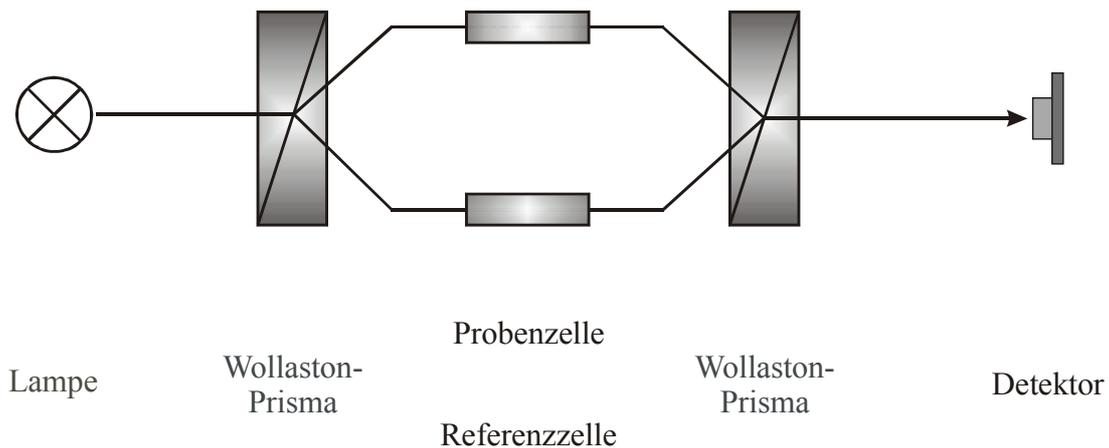
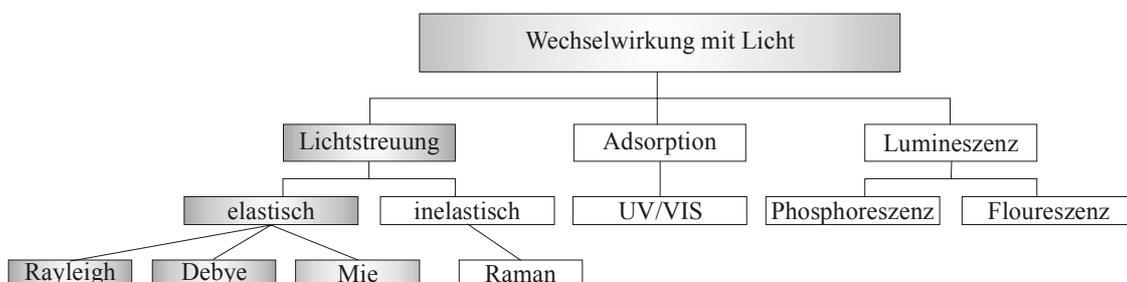


Abbildung 4.5-2 Schematische Darstellung eines Interferometers bestehend aus einer monochromatisiertes, polarisiertes Licht liefernden Strahlungsquelle, Wollaston-Prisma, welches den Strahl in zwei intensitätsgleiche Strahlen teilt, einer Probe- und einer Referenzzelle, einem weiten Wollaston-Prisma, welches die beiden Strahlen wieder zusammenführt und einem Detektor, der die zur Differenz des Brechungsindex  $\Delta n$  proportionalen Intensitätsschwankungen erfäßt.

## 4.6 Lichtstreuung

Lichtstreuung beruht auf der Wechselwirkung zwischen Materie und elektromagnetischer Strahlung. Dabei ist die Lichtstreuung eine von mehreren verschiedenen möglichen Wechselwirkungen von Licht mit Materie, wie in **Abbildung 4.6-1** dargestellt ist.



*Abbildung 4.6-1 Verschiedene Wechselwirkungen von Licht mit Materie. Die Bereiche der im folgenden betrachteten elastischen Lichtstreuung sind grau hervorgehoben.*

Die Wechselwirkung von Licht mit Materie sind aus dem Alltag gut bekannt: Fällt ein Lichtstrahl in einen Raum, in dem Staubteilchen schweben, so glitzern diese im Sonnenlicht. Dabei ist das zu beobachtende Glitzern auf die Streuung des Lichtes an den Staubteilchen zurückzuführen (Tyndall-Effekt). Hierbei wird die Energie der Strahlung nicht von der Materie aufgenommen, wie es bei der Absorption der Fall ist, sondern er wird von seiner ursprünglichen Richtung abgelenkt (Streuung). Auch der blaue Himmel, das Morgen- und Abendrot beruhen auf dieser Art von Wechselwirkung zwischen elektromagnetischer Strahlung und Materie.

Trifft eine Lichtwelle auf ein Teilchen, so werden die Elektronen des Teilchens angeregt<sup>21</sup>. Es bildet sich ein Dipol aus, da sich Elektronen und Atomkerne in entgegengesetzte Richtung bewegen; man spricht von Verschiebungspolarisation. Der sich ausbildende Dipol schwingt mit der gleichen Frequenz wie das anregende Licht und wird somit ebenfalls eine Quelle elektromagnetischer Strahlung, er sendet die sogenannte Streustrahlung aus. Die Intensitätsverteilung des von dem oszillierenden Dipols abgestrahlten Lichtes entspricht der in **Abbildung 4.6-2** dargestellten Verteilung. Die Intensität des Streulichtes beträgt dabei nur das  $1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-6}$  fache der Intensität des Primärlichtes. In die Richtung, in die der Dipol schwingt, ist die Intensität gleich null. Die

<sup>21</sup> Atkins, P. W., (Hrsg.), „*Physikalische Chemie*“, VCH Verlagsges. mbH Weinheim, **1987**, 619.

Schwingungsrichtung eines isotropen Moleküldipols stimmt mit der Schwingungsrichtung des elektrischen Vektors des einfallenden Lichtes überein, weist somit die gleiche Polarisationsrichtung wie der Primärstrahl auf und ist aufgrund seiner Kohärenz interferenzfähig.

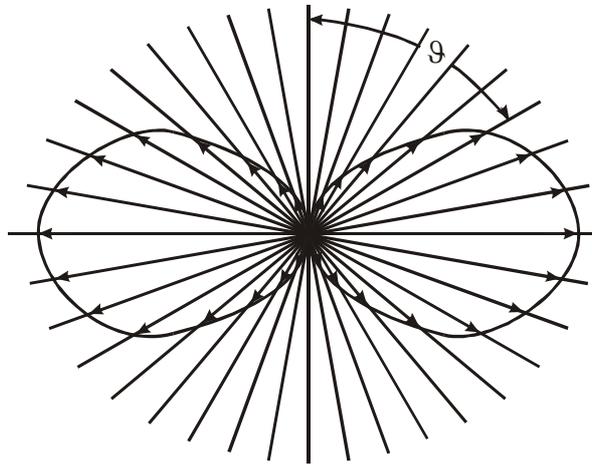


Abbildung 4.6-2 Polardiagramm der von einem oszillierenden elektrischen Dipol abgestrahlten Energie.

Die Lichtstreuung hat auf dem Gebiet der Polymeranalytik, insbesondere an verdünnten Polymerlösungen, große Bedeutung. Sie ist eine - streng theoretisch ableitbare - Absolutmethode zur Ermittlung der Molmasse, wobei Massen im Bereich von  $10^3$  bis  $10^9$  g/mol bestimmbar sind<sup>22</sup>. Neben der Erfassung der Moleküldimensionen (im Bereich von  $\sim 10$  bis 500 nm) ohne Kenntnis der Molekülform ermöglicht sie darüber hinaus auch die Bestimmung des zweiten Virialkoeffizienten  $A_2$ .

Mit der Theorie kleiner Teilchen beschäftigten sich Rayleigh<sup>23</sup>, Smoluchowski<sup>24,25</sup> und Einstein<sup>26</sup>, die die Grundlagen zur Anwendung der Lichtstreuung legten. Weiterführende Untersuchungen an Polymerlösungen wurden von Raman<sup>27</sup>, Debye<sup>28,29,30</sup> und Zimm<sup>31,32</sup>

<sup>22</sup> Wyatt Technology, Produktbroschüre zum DAWN EOS, 1999.

<sup>23</sup> Rayleigh, J. W. Strutt., „On James Bernoulli's theorem in probabilities“, Philos. Mag. 47(5), 1899, 246.

<sup>24</sup> Smoluchowski, M. v., „Molekular-kinetische Theorie der Opaleszens von Gasen im kritischen Zustande, sowie einiger verwandter Erscheinungen“, Ann. Phys. 25, 1908, 205.

<sup>25</sup> Smoluchowski, M. v., „On Opalescence of Gases in the Critical State“, Phil. Mag. 23, 1912, 165.

<sup>26</sup> Einstein, A., „Theory of Opalescence of Homogeneous Liquids and Mixtures of Liquids in the Vicinity oh the Critical State“, Ann. Phys. 33, 1910, 1275.

<sup>27</sup> Raman, C. V., „Relation of Tyndall Effect to Osmotic Pressure in Colloidal Solutions“, Indian J. Phys. 2, 1927, 1.

<sup>28</sup> Debye, P., „Light scattering in solutions“, J. Appl. Phys. 15, 1944, 338.

gemacht. Die Lichtstreuung ist heute eine etablierte Methode zur Charakterisierung von Polymeren und wird in vielen Lehrbüchern<sup>21,33,34,35</sup> beschrieben.

In der Lichtstreuung unterscheidet man sowohl elastische und inelastische als auch dynamische und statische Lichtstreuung.

Bei der elastischen Streustrahlung stimmen Erregerfrequenz und die abgestrahlte Frequenz überein. Ändert sich die Frequenz bei der Streuung, so spricht man von inelastischer oder auch Raman-Streuung.

Bei der dynamischen Lichtstreuung wird die zeitliche Änderung des Streulichtes erfaßt. Aufgrund der Brownschen Molekularbewegung erfährt das elastisch gestreute Licht eine Dopplerverschiebung der Frequenz, daher ist das Frequenzspektrum zeitlich nicht konstant. Im Falle der statischen Lichtstreuung ist die Meßzeit im Vergleich zu der Frequenzänderung lang, so daß das beobachtete Streulicht im Mittel die gleiche Frequenz hat wie das Primärlicht. Im folgenden wird die statische Lichtstreuung betrachtet, die auch als frequenzgemittelte elastische Lichtstreuung bezeichnet wird.

Das Verhältnis des Teilchendurchmessers  $d$  zur Wellenlänge  $\lambda$  des einfallenden Lichtes führt zu unterschiedlichen Streubildern. Man unterscheidet daher drei Fälle:

1. Rayleigh-Streuung mit  $d < \lambda/20$
2. Debye-Streuung mit  $\lambda/20 < d < \lambda$
3. Mie-Streuung mit  $\lambda < d$ .

Aufgrund der Bedeutung für diese Arbeit werden die Rayleigh- und Debye-Streuung im folgenden ausführlicher beschrieben.

---

<sup>29</sup> Debye, P., „*Molecular-weight determination by light scattering*“, Phys. Coll. Chem. 51, 1947, 18.

<sup>30</sup> Debye, P., „*Angular dissymmetry of the critical opalescence in liquid mixtures*“, J. Chem. Phys. 31, 1959, 680.

<sup>31</sup> Zimm, B. H., „*Molecular Theory of the Scattering of Light in Fluids*“, J. Chem. Phys. 13, 1945, 141.

<sup>32</sup> Zimm, B. H., „*The scattering of light and the radial distribution function of high polymer solutions*“, J. Chem. Phys. 16, 1948, 1093.

<sup>33</sup> Kratochvil, P., „*Classical Light Scattering from Polymer Solutions*“, Jenkins, A. D. (Hrsg.), Polymer Science Library 5, Elsevier, 1987.

<sup>34</sup> Lechner, H.-L., Nordmeier, E. H., Gehrke, K., „*Makromolekulare Chemie*“, Birkhäuser Verlag Basel, 1993.

<sup>35</sup> Burchard, W., „*Static and Dynamic Light Scattering from Branched Polymers and Biopolymers*“, Adv. in Polym. Sci. 48, 1983, 1.

**Lichtstreuung an kleinen Teilchen (Rayleigh-Streuung):** Rayleigh untersuchte Gase, bei denen die Durchmesser der wechselwirkenden Moleküle klein im Verhältnis zur Wellenlänge des eingestrahlt Lichts sind. Bei Teilchen mit einem Durchmesser  $d$ , der kleiner als  $\lambda/20$  der Wellenlänge  $\lambda$  des Primärstrahles ist, wirkt jedes Teilchen als genau ein Streuzentrum. Trifft unter diesen Bedingungen ein vertikal polarisierter Lichtstrahl das Teilchen, so wird ein oszillierender Dipol induziert, von dem die Streustrahlung (auch Sekundärstrahlung) mit gleicher Wellenlänge, also gleicher Frequenz und Energie wie der Ausgangsstrahl ausgesendet wird. Das Streulichtexperiment ist in **Abbildung 4.6-3** dargestellt. Da die Streustrahlung aller Teilchen somit kohärent ist, kann es zu intermolekularer Interferenz kommen. Bei genügend großen Abstand der Teilchen kann hingegen die intermolekulare Interferenz ausgeschlossen werden.

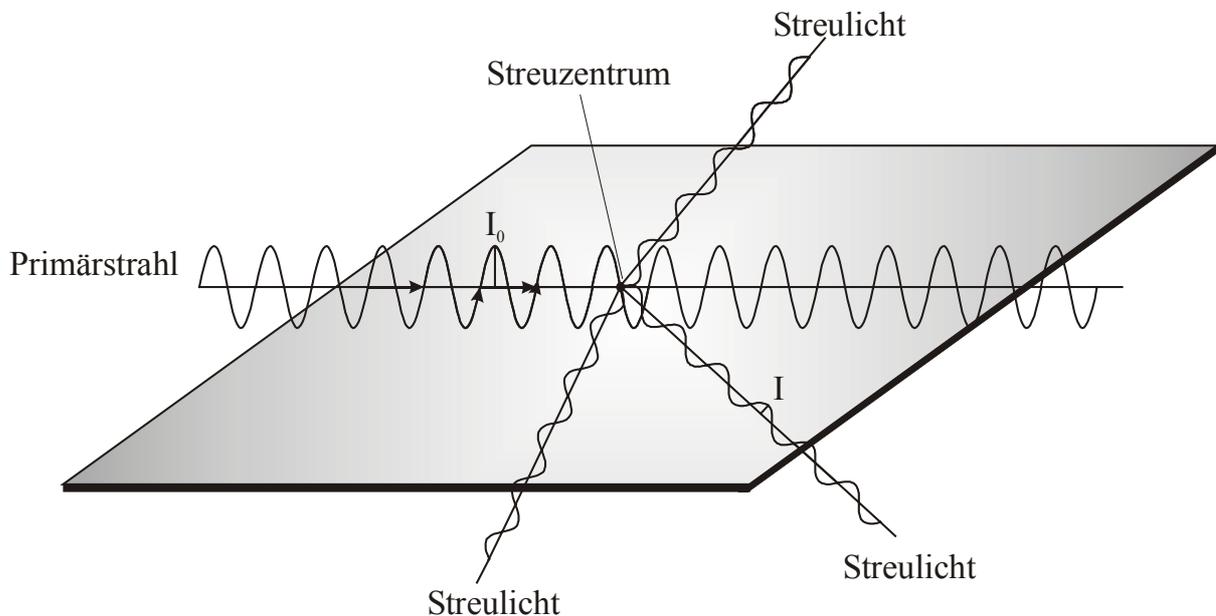


Abbildung 4.6-3 Darstellung der Streulichtexperimentes.

Das Dipolmoment  $P$ , das durch das elektrische Feld  $E$  des Primärstrahles erzeugt wird, kann mittels der Polarisierbarkeit  $\alpha$  (eine Proportionalitätskonstante, auch oft als Streukraft bezeichnet) über **Gleichung 4.6-1** beschrieben werden.

$$P = \alpha \cdot |E| \qquad \text{Gleichung 4.6-1}$$

Die Intensität der Streuung  $I_\vartheta$  im Abstand  $r$  vom Detektor unter dem Winkel  $\vartheta$  hängt von der Intensität  $I_0$  und der Wellenlänge  $\lambda_0$  des Primärstrahles und der Polarisierbarkeit  $\alpha$  des streuenden Teilchen ab. In **Gleichung 4.6-2** sind diese Abhängigkeiten dargestellt.

$$I_\vartheta = I_0 \cdot \frac{16 \cdot \pi^4 \cdot \alpha^2}{\lambda_0^4 \cdot r^2} \cdot \left( \frac{1 + \cos^2 \vartheta}{2} \right) \quad \text{Gleichung 4.6-2}$$

Anhand dieser Gleichung erkennt man, daß die Stärke der Streuung umgekehrt proportional der 4. Potenz der Wellenlänge  $\lambda$  ist, kurzwelliges Licht wird stärker gestreut als langwelliges (Tyndal-Phänomen). Damit kann man die Erscheinung des blauen Himmels erklären. Blaues Licht ist energiereicher als die anderen Farben des sichtbaren Lichtspektrums, das im Bereich von 400 bis 750 nm liegt. Damit wird es stärker gestreut, der Himmel erscheint blau. In den Morgen- und Abendstunden ist der Weg des Lichtes durch die Atmosphäre länger. Mit der zunehmender Weglänge wird die Intensität des gestreuten Lichtes schwächer, es bleibt das nicht so stark gestreute rote Licht höherer Wellenlängen übrig, der Himmel erscheint rot.

Bei polarisiertem Licht hängt die Streuintensität vom Beobachtungswinkel ab. Bei vertikal polarisiertem Licht ist die Streuintensität in der Beobachtungsebene (= xy-Ebene) vom Beobachtungswinkel  $\vartheta$  unabhängig (**Abbildung 4.6-4 a**)). Bei horizontal polarisierten Licht und ebenso bei unpolarisiertem Licht, das man sich als eine Überlagerung von vertikal und horizontal polarisiertem Licht vorstellen kann, ist eine Winkelabhängigkeit zu beobachten (**Abbildung 4.6-4 b**) und **c**)). Aufgrund der Winkelunabhängigkeit des Streulichtes in der Beobachtungsebene wird bei Streulichtmessungen mit vertikal polarisiertem Licht gearbeitet.

Da für kleine Teilchen keine Winkelabhängigkeit bei vertikal polarisiertem Licht besteht, wird der Term  $\left( \frac{1 + \cos^2 \vartheta}{2} \right) = 1$  und **Gleichung 4.6-2** vereinfacht sich zu **Gleichung 4.6-3**.

$$I_\vartheta = I_0 \cdot \frac{16 \cdot \pi^4 \cdot \alpha^2}{\lambda_0^4 \cdot r^2} \quad \text{Gleichung 4.6-3}$$

Die Polarisierbarkeit  $\alpha$  ist mit der Dielektrizitätskonstanten  $\varepsilon$  verknüpft. Für elektromagnetische Strahlung im sichtbaren Bereich gilt für die Dielektrizitätskonstante  $\varepsilon$  eine

Proportionalität zum Brechungsindex  $n$ :  $\varepsilon \propto n^2$ . Damit kann man nach **Gleichung 4.6-4** die Polarisierbarkeit  $\alpha$  mit dem Brechungsindex  $n_0$  des Lösungsmittels, dem Brechungsindexinkrement  $(dn/dc)$ , der Konzentration  $c$  in einem Streuvolumen  $V_S$  und der Teilchenzahl  $N$  darstellen.

$$\alpha = \frac{n_0}{2 \cdot \pi} \cdot \left( \frac{dn}{dc} \right) \cdot \frac{c \cdot V_S}{N} \quad \text{Gleichung 4.6-4}$$

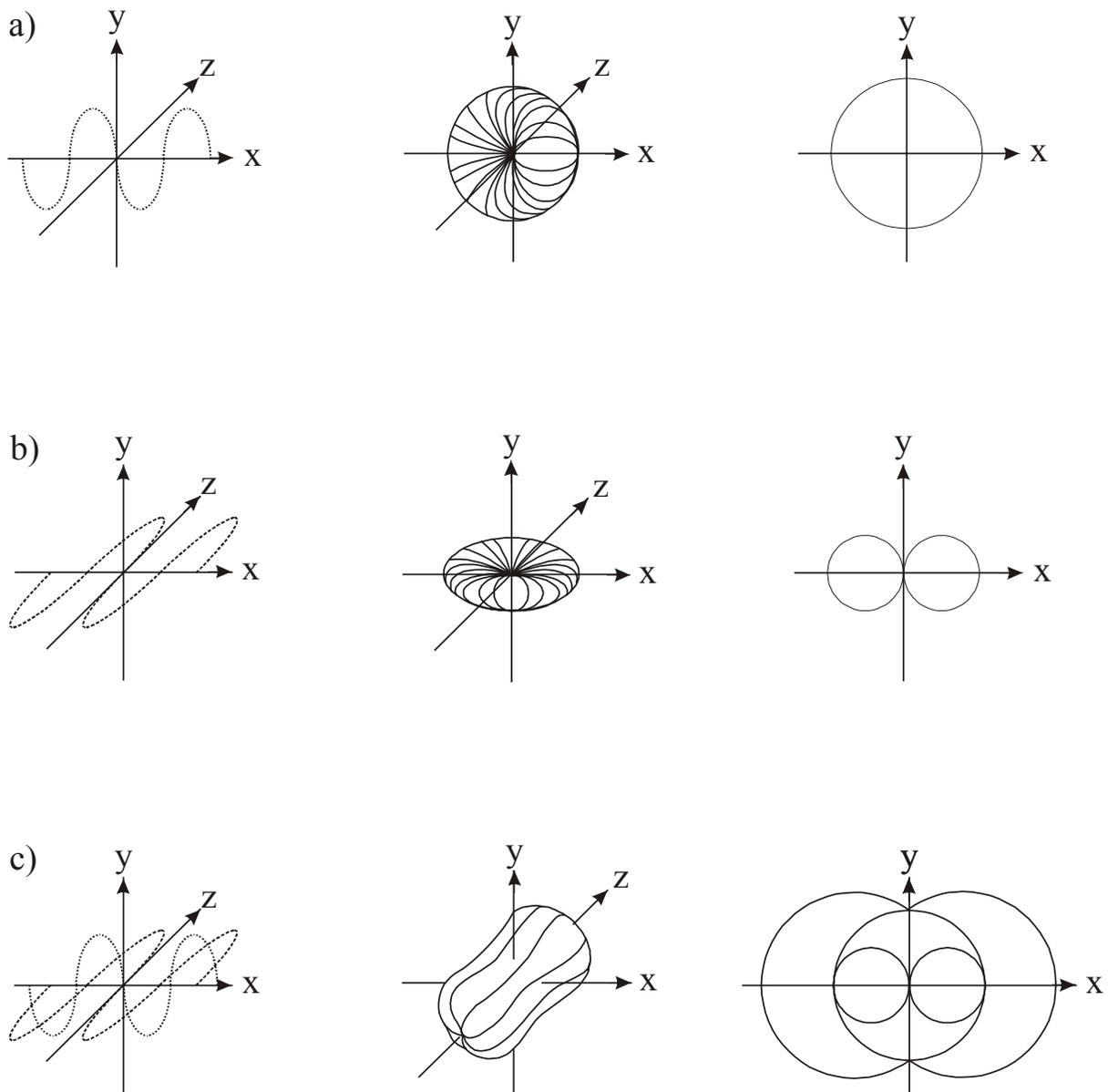


Abbildung 4.6-4 Intensitätsverteilung und Winkelabhängigkeit des Streulichtes in der Beobachtungsebene (= xy-Ebene) bei einfallendem a) vertikal, b) horizontal und c) unpolarisiertem Primärlicht.

Geht man zu einem System mit mehr als einem Teilchen über, so muß die Anzahl  $N$  der Teilchen berücksichtigt werden. Mit der Avogadro-Zahl  $N_A$ , der Molmasse  $M$  und der Konzentration  $c$  ergibt sich für die Streuintensität  $I_g$  für ein Streuvolumen  $V_S$  zu **Gleichung 4.6-5**.

$$I_g = I_0 \cdot \frac{V_s \cdot 4 \cdot \pi^2 \cdot n_0^2}{\lambda_0^4 \cdot r^2 \cdot N_A} \cdot \left( \frac{dn}{dc} \right)^2 \cdot c \cdot M \quad \text{Gleichung 4.6-5}$$

In Lösung tritt neben der Streuung der betrachteten Teilchen auch noch die Streuung durch das Lösungsmittel auf. Da nur die gesamte Streuintensität  $I_g$  gemessen werden kann, muß man beachten, daß sich diese aus der Differenz der Streuintensität der gesamten Lösung  $I_{g, Lsg}$  und des reinen Lösungsmittels  $I_{g, LM}$  nach **Gleichung 4.6-6** zusammensetzt.

$$I_g = I_{g,Lsg} - I_{g,LM} \quad \text{Gleichung 4.6-6}$$

Die so erhaltene Streuintensität  $I_g$  ist von den Gerätekonstanten abhängig. Um eine Unabhängigkeit vom Meßaufbau zu erreichen, wird die Streulichtintensität  $I_g$  pro detektiertes Streuvolumen  $V_S$  mit dem Abstandquadrat  $r^2$  (vom Detektor) multipliziert und auf die Primärlichtintensität  $I_0$  bezogen (**Gleichung 4.6-7**). Die erhaltene Größe wird als Exzeß-Rayleigh-Verhältnis  $R_g$  bezeichnet.

$$R_g = \frac{I_g \cdot r^2}{V_S \cdot I_0} \quad \text{Gleichung 4.6-7}$$

Die Konstanten in **Gleichung 4.6-5** werden zur sogenannten optischen Konstante

$K = \frac{4 \cdot \pi^2 \cdot n_0^2}{N_A \cdot \lambda_0^4} \cdot \left( \frac{dn}{dc} \right)^2$  zusammengefaßt. Somit ergibt sich **Gleichung 4.6-8**.

$$I_g = I_0 \cdot \frac{V_S}{r^2} \cdot K \cdot c \cdot M \quad \text{Gleichung 4.6-8}$$

Setzt man das Exzeß-Rayleigh-Verhältnis aus **Gleichung 4.6-7** in **Gleichung 4.6-8** ein, erhält man für unendliche Verdünnung isotroper Streuer für kleine Konzentrationen  $c$  die allgemeine **Lichtstreu-Gleichung 4.6-9**.

$$\frac{K \cdot c}{R_g} = \frac{1}{M} \quad \text{Gleichung 4.6-9}$$

**Gleichung 4.6-9** gilt nur für unendlich verdünnte Lösungen, bei denen intermolekulare Wechselwirkungen ausgeschlossen werden können. Bei höheren Konzentrationen kann es zu inter- und intramolekularen Wechselwirkungen kommen, die – ähnlich wie beim osmotischen Druck – nach Debye in einem Virialansatz entsprechend **Gleichung 4.6-10** berücksichtigt werden.

$$\frac{K \cdot c}{R_g} = \frac{1}{M} + 2A_2 \cdot c + 3A_3 \cdot c^2 + \dots \quad \text{Gleichung 4.6-10}$$

Hierbei beschreibt der zweite Virialkoeffizient  $A_2$  die Wechselwirkungen von Polymer mit dem Lösungsmittel, der dritte Virialkoeffizient  $A_3$  ist ein Maß für die Wechselwirkungen der Polymersegmente untereinander. Die Virialkoeffizienten fallen in der Regel mit zunehmender Molmasse ab. Bei kleinen Konzentrationen wird bereits das dritte Glied  $3A_3 \cdot c^2$  vernachlässigbar klein, so daß die Potenzreihe meist nach dem zweiten Glied abgebrochen wird. Aus **Gleichung 4.6-10** läßt sich durch Extrapolation der Konzentration  $c$  gegen null ( $c \rightarrow 0$ ) die Molmasse ermitteln.

**Lichtstreuung an größeren Teilchen (Debye-Streuung):** Für Teilchen mit einem Durchmesser  $d > \lambda/20$  besteht auch für vertikal polarisiertes Licht eine Winkelabhängigkeit der Streuintensität  $I_g$ . Dies ist damit zu erklären, daß diese Teilchen im Gegensatz zu den kleinen isotropen Streuern, die nur ein Streuzentrum pro Molekül aufweisen, mehrere Streuzentren pro Molekül aufzeigen können (siehe **Abbildung 4.6-5**). Aufgrund der Kohärenz der Streustrahlung interferieren die Streuwellen. Dabei weisen die in einem Molekül an unterschiedlichen Streuzentren gestreuten Wellen einen Gangunterschied auf, der proportional zu  $\cos \vartheta$  ist. Für Teilchen, deren Durchmesser  $d$  kleiner als die Wellenlänge  $\lambda$  ist, kann nur destruktive Interferenz auftreten.

Dabei ist bei der Winkelabhängigkeit der Streuintensität der Gangunterschied bei einem Winkel von  $0^\circ$  gleich null und hat bei einem Winkel von  $180^\circ$  sein Maximum. Das sich ergebende Streubild ist in **Abbildung 4.6-6** sowohl für isotrope Streuer als auch für Teilchen mit einem Durchmesser  $\lambda/20 < d < \lambda$  dargestellt.

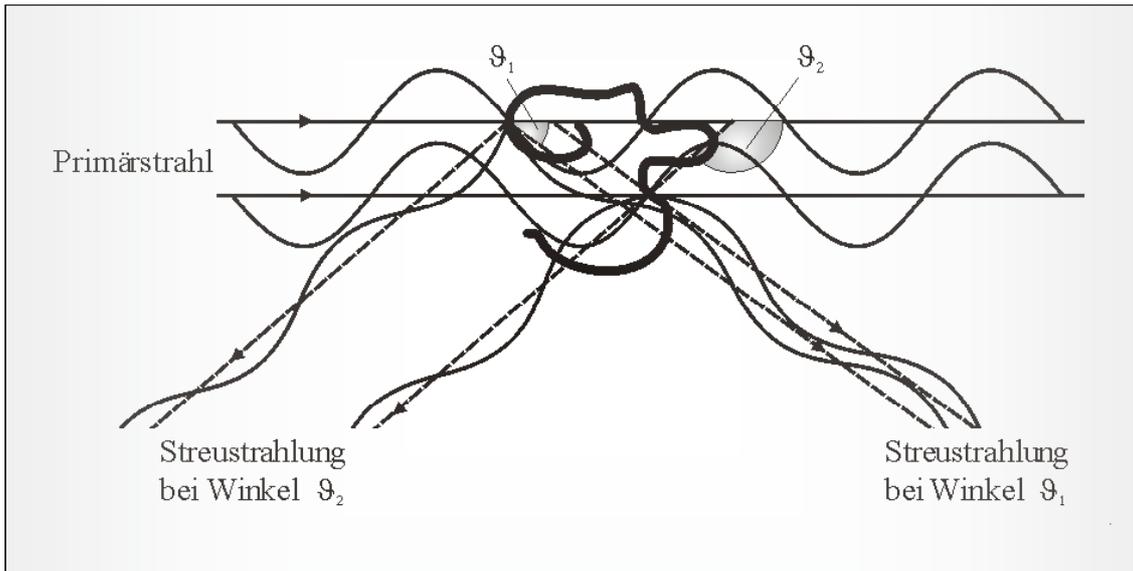


Abbildung 4.6-5 Intramolekulare Interferenzen an einem Polymer der Größe  $\lambda/20 < d < \lambda$  an zwei Streuzentren innerhalb des Moleküls unter zwei verschiedenen Winkeln  $\vartheta_1$  und  $\vartheta_2$ .

Die Winkelabhängigkeit der Streuintensität aufgrund der destruktiven Interferenz lässt sich durch die Streufunktion  $P_\vartheta$  ausdrücken. Die Streufunktion gibt dabei das Verhältnis der Streuintensität  $R_\vartheta$  unter dem Winkel  $\vartheta$  zu der Streuintensität  $R_{0^\circ}$  unter dem Winkel  $0^\circ$  an (**Gleichung 4.6-11**). Danach ist die Streufunktion  $P_\vartheta$  im Winkel  $0^\circ$  gleich eins.

$$P_\vartheta = \frac{R_\vartheta}{R_{0^\circ}} \quad \text{Gleichung 4.6-11}$$

Nach Debye ist die Streufunktion  $P_\vartheta$  neben dem Streuwinkel auch von der Größe und der Geometrie des Moleküls abhängig. Hierbei wird insbesondere der Abstand zweier Streuzentren  $r_{ij}$  berücksichtigt. Für die Streufunktion gilt unabhängig von der Molekülform unter Berücksichtigung der Anzahl der Streuzentren  $N$  **Gleichung 4.6-12**.

$$P_\vartheta = \frac{1}{N^2} \cdot \sum_i \sum_j \frac{\sin(q \cdot r_{ij})}{q \cdot r_{ij}} \quad \text{Gleichung 4.6-12}$$

In die Gleichung geht der Streuvektor  $q$ , der die Winkelabhängigkeit der Partikelstreufunktion beschreibt, mit ein. Der Streuvektor  $q$  lässt sich mathematisch nach **Gleichung 4.6-13** beschreiben.

$$q = \frac{4 \cdot \pi \cdot n_0}{\lambda_0} \cdot \sin\left(\frac{\vartheta}{2}\right)$$

Gleichung 4.6-13

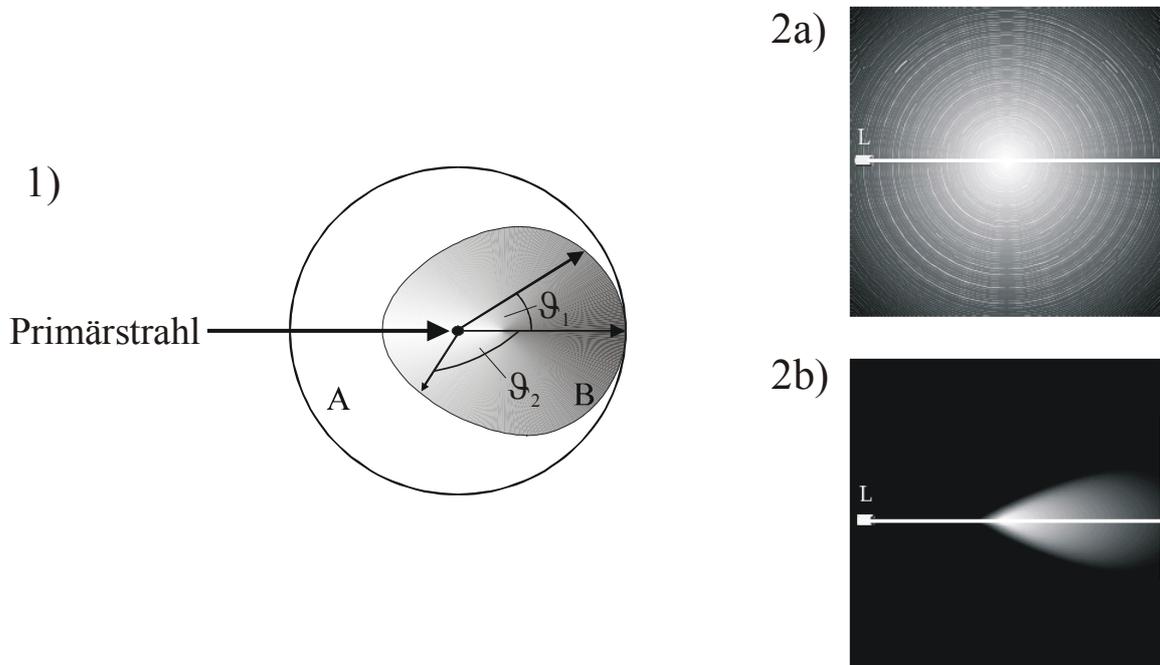


Abbildung 4.6-6 Winkelabhängigkeit der Streuintensität: 1) Schematische Darstellung für einen isotropen Streuer (A) und einen Teilchen des Durchmessers  $\lambda/20 < d < \lambda$ . 2) Realaufnahmen<sup>36</sup> von einem isotropen Streuer (2a) und einem Streuer des Durchmessers  $\lambda/20 < d < \lambda$  (2b).

Für kleine  $q^2 \cdot R_G^2$  kann die reziproke Form der Streufunktion  $P_\vartheta$  nach **Gleichung 4.6-14** beschrieben werden.

$$\frac{1}{P_\vartheta} = 1 + \frac{1}{3} \cdot q^2 \cdot R_G^2$$

Gleichung 4.6-14

Daraus ergibt sich die allgemeine Lichtstreu-**Gleichung 4.6-15** unter Berücksichtigung der Streufunktion  $P_\vartheta$  zu:

<sup>36</sup> Wyatt Technology, Unterlagen zum Userforum „GPC-LS-Kopplung: Grundlagen und Praxis“, 1999.

$$\frac{K \cdot c}{R_g} = \frac{1}{P_g} \cdot \left( \frac{1}{M} + 2A_2 \cdot c + \dots \right) \quad \text{Gleichung 4.6-15}$$

Setzt man in **Gleichung 4.6-15** die Streufunktion  $P_g$  aus **Gleichung 4.6-14** ein, erhält man für die allgemeine Streulicht-**Gleichung 4.6-16**:

$$\frac{K \cdot c}{R_g} = \left( 1 + \frac{1}{3} \cdot q^2 \cdot R_G^2 \right) \cdot \left( \frac{1}{M} + 2A_2 \cdot c + \dots \right) \quad \text{Gleichung 4.6-16}$$

Näherungsweise wird sie zu **Gleichung 4.6-17**:

$$\frac{K \cdot c}{R_g} = \frac{1}{M} + \frac{1}{3 \cdot M} \left( \frac{4 \cdot \pi \cdot n_0}{\lambda_0} \right)^2 \sin^2 \left( \frac{\vartheta}{2} \right) R_G^2 + 2A_2 \cdot c \quad \text{Gleichung 4.6-17}$$

Diese Gleichung gestattet es für die betrachteten Teilchen mit dem Durchmesser  $\lambda/20 < d < \lambda$  die Molmasse  $M$ , den Trägheitsradius  $R_G$  und den zweiten Virialkoeffizienten  $A_2$  zu ermitteln. Hierzu wird das doppelte Extrapolationsverfahren nach Zimm angewendet. In einem Diagramm wird  $\frac{K \cdot c}{R_g}$  gegen  $\sin^2 \left( \frac{\vartheta}{2} \right) + k \cdot c$  aufgetragen.  $k$  dient hier als Spreizfaktor, der willkürlich gewählt wird, um eine bessere Ablesemöglichkeit zu gewähren. Nun wird die Gleichung auf die Konzentration  $c = 0$  und auf den Winkel  $\vartheta = 0$  extrapoliert. Für beide Extrapolationen erhält man aus dem Ordinatenabschnitt die reziproke Molmasse  $M^{-1}$ . Aus der Steigung der Geraden mit der Extrapolation gegen die Konzentration  $c = 0$  erhält man das Quadrat des Trägheitsradius  $R_G^2$  und die Steigung der Extrapolation gegen den Winkel  $\vartheta = 0$  ergibt den zweiten Virialkoeffizienten  $A_2$ . Das Verfahren ist in **Abbildung 4.6- 7** dargestellt.

Die Lichtstreuung liefert für die Molmasse die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  und für den Trägheitsradius den z-statistischen Trägheitsradius  $R_{G,z}$ . Zur Herleitung hierfür siehe Kapitel 8 Anhang, 8.6 Herleitung für  $M_w$  und  $R_{G,z}$  aus der Lichtstreuung.

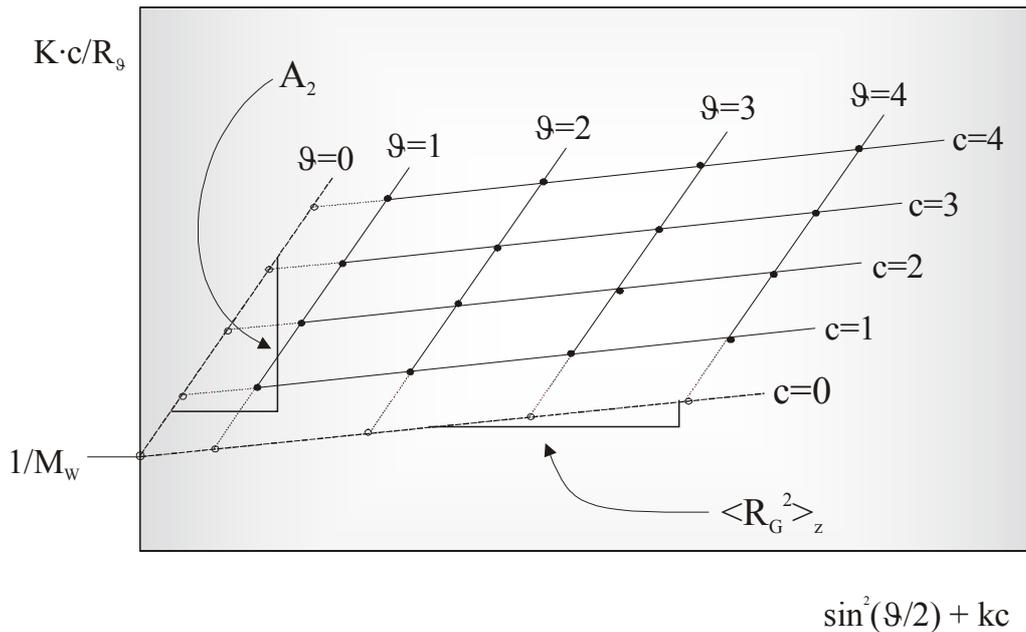


Abbildung 4.6- 7 Darstellung des Verfahrens der doppelten Extrapolation nach Zimm: Die Extrapolation der Konzentration  $c = 0$  ergibt aus der Steigung der resultierenden Geraden das Quadrat des Trägheitsradius  $R_G$ , die Extrapolation auf den Winkel  $\vartheta = 0^\circ$  gibt aus der Steigung den zweiten Virialkoeffizienten  $A_2$ . In beiden Fällen erhält man die reziproke Molmasse  $M^{-1}$  aus dem Ordinatenabschnitt.

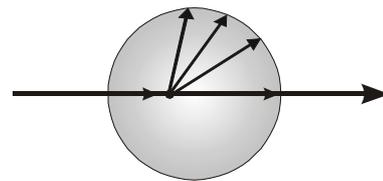
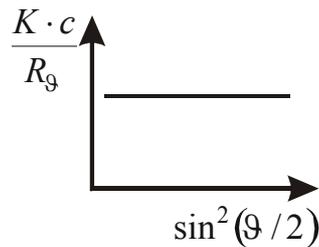
**Lichtstreuung an großen Teilchen (Mie-Streuung)**<sup>37</sup>: Teilchen, deren Durchmesser  $d$  gleich oder größer der Wellenlänge  $\lambda$  ist, weisen wie auch bei der Debye-Streuung mehrere Streuzentren pro Molekül auf. Hierbei können die Abstände der Streuzentren so groß sein, daß neben destruktiver Interferenz auch konstruktive Interferenz möglich ist. Damit ist die Winkelabhängigkeit der Streustrahlung wesentlich komplexer als in Fall der Debye-Streuung, da es hier zur Ausbildung von Minima und Maxima für die Streulichtintensität kommt.

In **Abbildung 4.6-8** ist die Abhängigkeit der Streuintensität  $R_9$  vom Streuwinkel  $\vartheta$  für die drei unterschiedlichen Streubereiche in Abhängigkeit des Teilchendurchmessers  $d$  des Streuers schematisch dargestellt.

<sup>37</sup> Mie, G., „Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. (An optical characteristics of turbid media with special reference to metallic solutions)“, Ann. Phys. 25, 1908, 377.

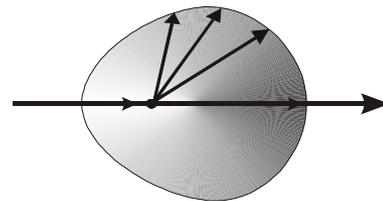
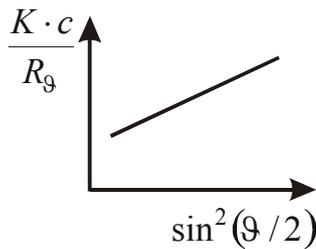
**1. Rayleigh ( $d < \lambda/20$ )**

$$\frac{K \cdot c}{R_\vartheta} = \frac{1}{M_w} + 2 \cdot A_2 \cdot c$$



**2. Debye ( $\lambda/20 < d < \lambda$ )**

$$\frac{K \cdot c}{R_\vartheta} = \frac{1}{P_\vartheta} \cdot \left( \frac{1}{M_w} + \dots \right)$$



**3. Mie ( $d > \lambda$ )**

$$\frac{K \cdot c}{R_\vartheta} = f(P_\vartheta, \sigma, \dots)$$

$\sigma =$  Polydispersität

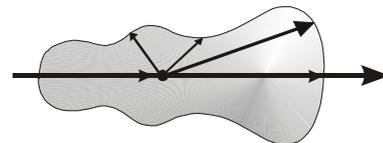
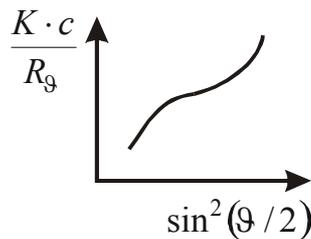


Abbildung 4.6-8 Abhängigkeit der Streuintensität  $R_\vartheta$  vom Streuwinkel  $\vartheta$  für die drei unterschiedlichen Streubereiche in Abhängigkeit des Teilchendurchmessers  $d$  des Streuers.

**4.7 Fraktionierung**

Polymere sind meist Gemische homologer Verbindungen unterschiedlicher Molmasse. Um neben der Molmasse, die nur einen Mittelwert darstellt, auch die Molmassenverteilung bestimmen zu können, ist eine Trennung in Fraktionen gleicher Molmasse erforderlich. Die Bestimmung der Molmasse jeder einzelnen Fraktion und ihres Anteils an der Gesamtmasse der Probe liefert die Molmassenverteilung. Die Qualität der bestimmten Molmassenverteilung ist dabei abhängig von der Qualität der Fraktionierung, d.h. von der Homogenität der einzelnen Fraktionen. Da sich die Fraktionen von Polymeren chemisch nicht unterscheiden, müssen zur Trennung physikalische Eigenschaften, die

durch die Molmasse beeinflusst werden, herangezogen werden. Bei bestimmten Detektionsformen ist neben der Molmasse und der Molmassenverteilung auch der Trägheitsradius und dessen Verteilung zugänglich<sup>38</sup>.

Zur Trennung können dabei unterschiedliche physikalische Methoden eingesetzt werden. Häufig angewandt werden chromatographische Verfahren. Bei diesen wird die unterschiedliche Verweilzeit der Einzelkomponenten eines Gemisches an einer stationären Phase ausgenutzt, die ständig von einer mobilen Phase gespült wird<sup>39,40</sup>. In der Polymeranalytik hat sich die Größenausschlußchromatographie (engl. size exclusion chromatography, SEC) etabliert. Hierbei erfolgt die Trennung aufgrund der unterschiedlichen hydrodynamischen Radien der Probenbestandteile. Des weiteren kann neben der Größenausschlußchromatographie auch die Feld-Fluß Fraktionierung (engl. field flow fractionation, FFF) eingesetzt werden, welche in den sechziger Jahren von C. J. Giddings<sup>41</sup> entwickelt wurde.

Beide Methoden werden im folgenden genauer beschrieben.

### 4.7.1 Größenausschlußchromatographie

Die Größenausschlußchromatographie<sup>42</sup> stellt eine chromatische Methode zur Fraktionierung von Polymeren dar. Die englische Bezeichnung für diese spezielle Form der High Performance Liquid Chromatography (HPLC) lautet *Size Exclusion Chromatography* und wird daher oft als SEC abgekürzt. Die Trennung der Probe erfolgt aufgrund der unterschiedlichen hydrodynamischen Radien der Teilchen, wobei es im idealen Fall zu keinen Wechselwirkungen zwischen der Probelösung und der stationären Phase kommt<sup>43,44,45</sup>.

---

<sup>38</sup> Klein, J., Kulicke, W.-M., Hollmann, J., „*Chromatographie zur Bestimmung der Molmassen und Teilchengrößenverteilungen von Polymeren*“, in „Analytiker Taschenbuch“, Springer-Verlag Berlin Bd. 19, **1998**, 317.

<sup>39</sup> Römpp Chemie Lexikon, Version 2.00, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1995**.

<sup>40</sup> Jakubke, H.-D., Jeschkeit, H. (Hrsg.), Brockhaus Chemie, Bd.2, 5.Aufl., VEB F. A. Brockhaus Verlag, Leipzig, **1987**.

<sup>41</sup> Giddings, J. C., „*A new separation concept based on a coupling of concentration and flow nonuniformities*“, Sep. Sci. 1, **1966**, 123.

<sup>42</sup> Provder, T., (Hrsg.) „*Chromatography of Polymers*“, ACS Washington, **1993**.

<sup>43</sup> Klein, J., Kulicke, W.-M., Hollmann, J., „*Chromatographie zur Bestimmung der Molmassen und Teilchengrößenverteilungen von Polymeren*“, in „Analytiker Taschenbuch“, Springer-Verlag Berlin Bd. 19, **1998**, 317.

<sup>44</sup> Tieke, B., „*Makromolekulare Chemie: Eine Einführung*“, VCH Weinheim, **1997**, 213.

Die Grundlagen dieser Methode wurden von Porath und Flodin<sup>46</sup> gelegt, denen es mittels quer vernetzter Dextrane gelang, wäßrige Proteinlösungen zu trennen. Durch Verwendung unterschiedlicher Füllmaterialien konnte die Methode auf ein breites Spektrum verschiedener Polymer-Lösungsmittel-Systeme ausgedehnt werden. Durch Verwendung vernetzter Polystyrole können organische Lösungsmittel eingesetzt werden. Die eingesetzten Füllmaterialien wurden und werden seit den Anfängen der SEC ständig erweitert und verbessert. So ist beispielweise der Partikeldurchmesser des porösen Säulenfüllmaterials von ursprünglich 30 µm auf heutzutage 3 bis 5 µm<sup>47</sup> gesunken. Diese kleine Partikelgröße führt zu einer erheblichen Verbesserung der Trennleistung. Die Porendurchmesser des Füllmaterials haben Größen von 0,01 – 0,5 µm. Die eingesetzten Materialien werden jeweils dem Trennproblem mit den entsprechenden Lösungsmitteln angepaßt. So werden für organische Lösungsmittel hochverzweigte, quervernetzte Polystyrole, für wäßrige Lösungsmittel hingegen hydrophile Gele wie Polyacrylmethacrylat oder Polyacrylamid verwendet. Auch auf silica-basierende Substanzen werden eingesetzt.

Das Prinzip der Trennung ist in **Abbildung 4.7.1-1** dargestellt. Die zu trennenden Teilchen können aufgrund ihres hydrodynamischen Radius unterschiedlich tief in die Poren des Säulenfüllmaterials eindringen. Dies führt zu unterschiedlichen effektiven Weglängen, die die Teilchen zurücklegen. Dabei treten die kleinsten Teilchen (in der Abbildung Teilchen D) am tiefsten in die Poren ein. Sie haben damit die größte effektive Weglänge, wohingegen die größeren Teilchen schneller eluieren. Damit liegen die großen Teilchen in der Elutionsreihenfolge vor den kleineren. Für den idealen Fall der Trennung kann das Elutionsvolumen  $V_e$  mittels des Verteilungskoeffizienten  $K_{SEC}$  und des Zwischenvolumens  $V_0$  sowie des Porenvolumens  $V_P$  nach **Gleichung 4.7.1-1** beschrieben werden.

$$V_e = V_0 + K_{SEC} \cdot V_P \qquad \text{Gleichung 4.7.1-1}$$

---

<sup>45</sup> Yau, W. W., Kirkland, J. J., „*Comparison of Sedimentation Field Flow Fractionation with Chromatographic Methods for Particulate and High-Molecular-Weight Macromolecular Characterization*“, J. Chrom. 218, **1981**, 217.

<sup>46</sup> Porath, J., Flodin, P., „*Gel filtration – a method for desalting and group separation*“, Nature 183, **1959**, 1657.

<sup>47</sup> Mori, S., Barth, H. G., „*Size Exclusion Chromatography*“, Springer Berlin, **1999**.

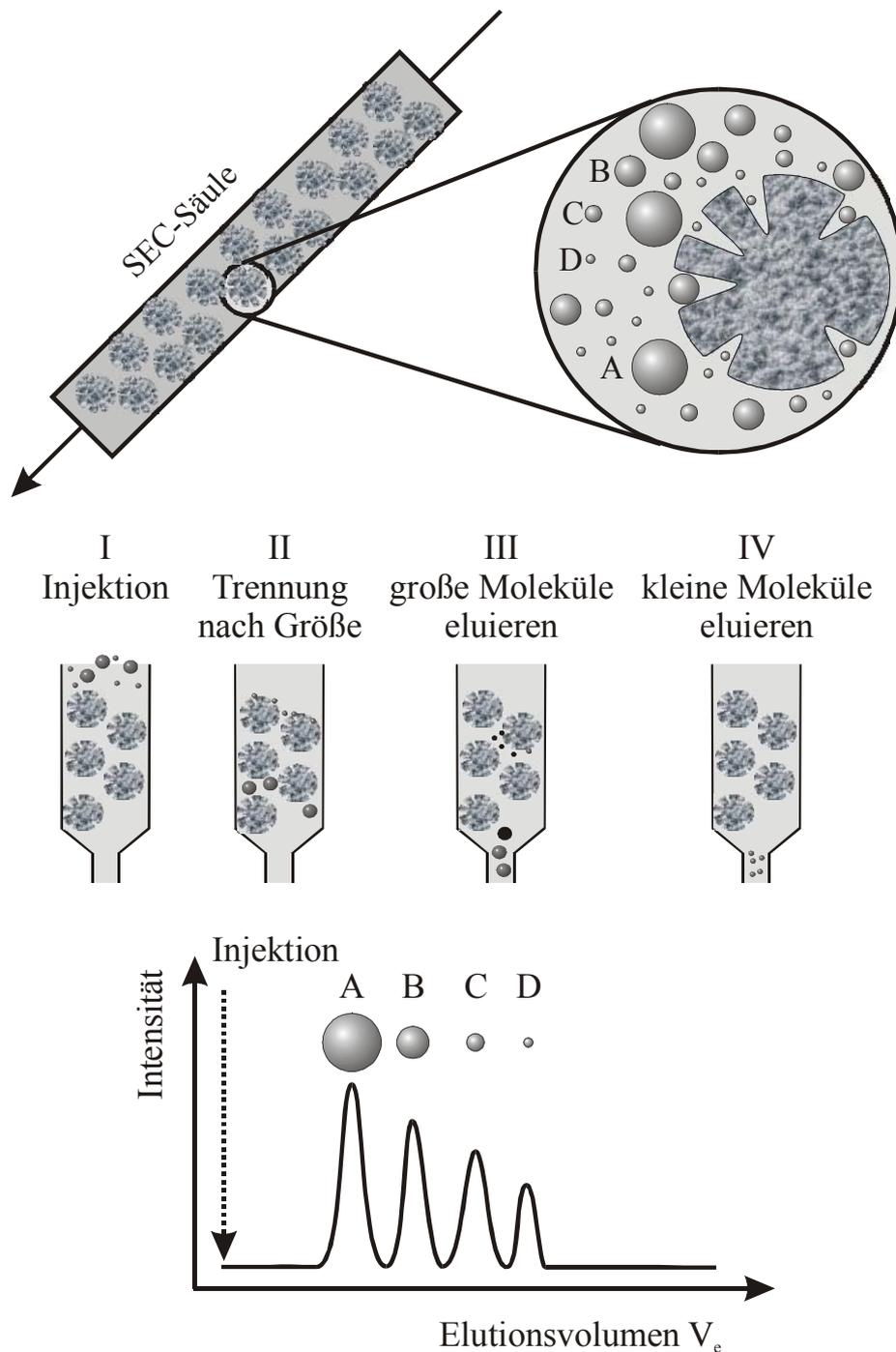


Abbildung 4.7.1-1 Schematische Darstellung des Trennprinzips der SEC: Die Säule, die von Lösungsmittel und Probelösung durchflossen wird, enthält poröses Füllmaterial. Die Probeteilchen können aufgrund unterschiedlicher hydrodynamischer Radien ( $A > B > C > D$ ) unterschiedlich tief in die Poren eindringen. Die Elutionsvolumina der großen Teilchen A liegen vor denen von B gefolgt von C und D.

Der Verteilungskoeffizient  $K_{SEC}$  gibt dabei den Bruchteil des Volumens an, der für einen bestimmten Radius zugänglich ist. Innerhalb der Poren wird die Geschwindigkeit und damit auch der Verteilungskoeffizient  $K_{SEC}$  nur durch Diffusionsprozesse beeinflusst. Kleine Teilchen halten sich durch diese Verzögerung gegenüber der Fließgeschwindigkeit des Lösungsmittels länger in den Poren auf als große. Damit liegt der Wert für den Verteilungskoeffizienten  $K_{SEC}$  zwischen null für ausgeschlossene Teilchen und eins für Teilchen, die die Poren vollständig durchdringen können. Da der Verteilungskoeffizient  $K_{SEC}$  als eine Funktion des Verhältnisses der gelösten Molekülgröße und der Größe der Poren aufgefaßt werden kann<sup>48,49,50,51,52,53,54</sup>, hängt das Elutionsvolumen also von der Beschaffenheit der Poren (Porengröße, Porenverteilung und Porenform), der Güte des Lösungsmittels und der Form sowie des hydrodynamischen Volumens der gelösten Teilchen selbst ab.

Die SEC ist durch die Porenbeschaffenheit begrenzt. So können Teilchen, die größer als die Poren sind und nicht in diese eindringen, nicht fraktioniert werden. Es kommt zum sogenannten Größenausschluß.

Entgegen der theoretischen Annahme, daß es zu keinen energetischen Wechselwirkungen mit der stationären Phase kommt, weshalb der Enthalpieterm in diesem Fall null ist, kann es bei realen Systemen zu Interaktionen kommen<sup>45,55,56</sup>. Hierbei unterscheidet man im wesentlichen drei Typen: die Adsorption, den Ionenausschluß und die Degradation

---

<sup>48</sup> Casassa, E. F., „*Theoretical models for peak migration in gel permeation chromatography*“, J. Phys. Chem. 75, **1971**, 3929.

<sup>49</sup> Giddings, J. C., Kucera, E., Russel, C. P., Myers, M. N., „*Statistical theory for the equilibrium distribution of rigid molecules in inert porous networks. Exclusion Chromatography*“, J. Phys. Chem. 72, **1968**, 4397.

<sup>50</sup> Laurent, T. C., Killander, J., „*A theory of gel filtration and its experimental verification*“, J. Chrom. 14, **1964**, 317.

<sup>51</sup> Ogston, A. G., „*The spaces in a uniform random suspension of fibres*“, Trans. Faraday Soc. 54, **1958**, 1754.

<sup>52</sup> van Kreveland, M. E., van den Hoed, N., „*Mechanism of gel permeation chromatography distribution coefficient*“, J. Chrom. 83, **1973**, 111.

<sup>53</sup> Casassa, E.F., „*Gel chromatography of once-broken rod molecules*“, J. Polym. Sci., Part A-2, 10, **1972**, 381.

<sup>54</sup> Casassa, E.F., „*Equilibrium distribution of flexible polymer chains between macroscopic solution phase and small voids*“, J. Polym. Sci., Part B, 5, **1967**, 773.

<sup>55</sup> Kato, Y., Matsuda, T., Hashimoto, T., „*New gel permeation column for separation of water-soluble polymers*“, J. Chrom. 332, **1985**, 39.

<sup>56</sup> Kulicke, W.-M., Böse, N., „*Bestimmung der Molmassenverteilung sowie der Stabilitätsgrenze von Polyacrylamiden unter Benutzung einer kombinierten Ausschlußchromatographie-Kleinwinkel-Laser-Streulicht-Photometer-Anlage*“, Coll. & Polym. Sci. 262, **1984**, 197.

(Abbildung 4.7.1-2). Die Adsorption<sup>57</sup> läßt sich zum einen auf entgegengesetzte Ladung von Probe und Säulenfüllmaterial (welches i.a. leicht negativ geladen ist) und zum anderen auf Wechselwirkung von funktionellen Gruppen von Probe und stationärer Phase zurückführen. Ionenausschluß ergibt sich hingegen bei gleichnamigen Ladungen von Probe und Füllmaterial. Zur Degradation<sup>56</sup> kann es kommen, wenn die Polymere aufgrund zu großer Scherbeanspruchungen zerreißen, da sie nicht relaxieren können.

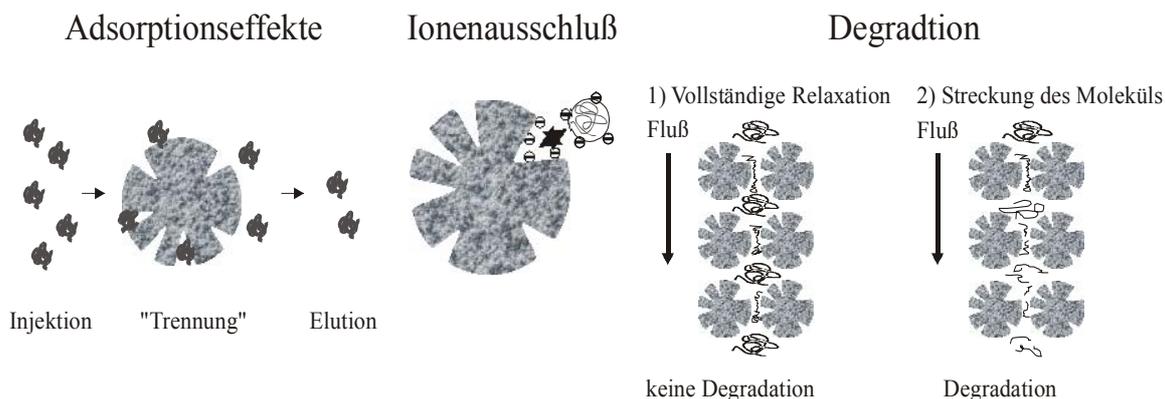


Abbildung 4.7.1-2 Mögliche Wechselwirkungen zwischen Proben- und Säulenfüllmaterial: Adsorption, Ionenausschluß und Degradation.

Auch die Probe selbst kann für die Trennung mittels SEC ungeeignet sein, wenn sie beispielsweise Aggregat- oder Assoziatanteile besitzt, welche durch die Probenpräparation oder durch Vorsäulen abgetrennt werden oder auf der Säule degradieren.

Die Größenausschlußchromatographie stellt eine Relativmethode zur Bestimmung der Molmasse und der Molmassenverteilung dar. Zur Bestimmung der Molmasse wird eine Proportionalität zwischen hydrodynamischen Radius/Volumen und der Molmasse ausgenutzt. Voraussetzung für die Ermittlung der Molmasse ist eine Kalibrierung mit engverteilten Standards bekannter Molmasse, die im Vergleich zur Probe bei gleichem hydrodynamischen Radius die gleiche Molmasse aufweisen. In **Abbildung 4.7.1-3** ist schematisch die Ermittlung der relativen Molmassenverteilung mittels der SEC dargestellt. Hierbei wird zu jedem Elutionsvolumen  $V_e$  die jeweilige Konzentration  $c_i$  aufgenommen (A). Das erhaltene Elutionsvolumen  $V_e$  wird mit dem Elutionsvolumen aus der Kalibrierkurve (B) des bekannten Standards verglichen, wodurch die Molmasse  $M_i$  erhalten wird. Die relative Molmassenverteilung (C) ergibt sich durch Auftragen der

<sup>57</sup> Barth, H. G., „Water soluble polymers“, Adv. in Chemistry Series, Glass, J. E. (Hrsg.), Washington D. C., 1986, 31.

Konzentration  $c_i$  gegen die entsprechende Molmasse  $M_i$ . Üblicherweise erfolgt die Darstellung der Molmasse  $M_i$  im logarithmischen Maßstab.

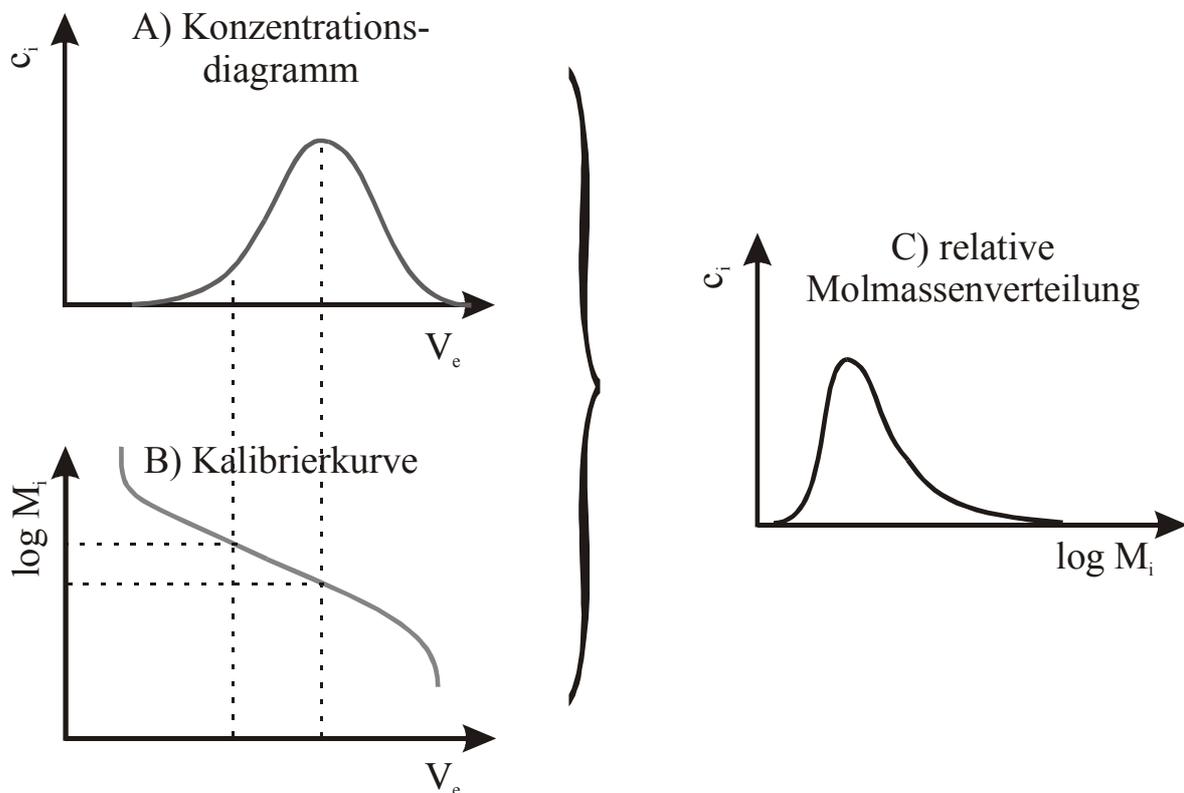


Abbildung 4.7.1-3 Ermittlung der relativen Molmassenverteilung mittels SEC. Die Konzentration  $c_i$  zu jedem Elutionsvolumen  $V_e$  der Probe wird aufgenommen (A) Konzentrationsdiagramm). In einer aus engverteilten Standards bekannter Molmasse ermittelten Kalibrierkurve (B) wird das Elutionsvolumen  $V_e$  der entsprechenden Molmasse  $M_i$  zugeordnet. Die relative Molmassenverteilung ergibt sich aus der Auftragung der Konzentration  $c_i$  gegen die Molmasse  $M_i$ .

#### 4.7.2 Feld-Fluß Fraktionierung

Unter dem Oberbegriff Feld-Fluß Fraktionierung (engl. field-flow fractionation, FFF) versteht man Trennmethode, bei denen die Trennung in einem Kanal mit parabolischen Strömungsprofil durch ein senkrecht zum Kanalfluß angelegtes Kraftfeld erfolgt<sup>58,59,60,61,62,63,64,65,66</sup>. Diese Methode wurde in den sechziger Jahren von J. C.

<sup>58</sup> Giddings, J. C., „A new separation concept based on a coupling of concentration and flow nonuniformities“, Sep. Sci. I, **1966**, 123.

Giddings entwickelt. Man unterscheidet die einzelnen Methoden der Feld-Fluß Fraktionierung aufgrund des angelegten Kraftfeldes, das entweder hydrodynamischer, thermischer, gravitativer oder elektrischer Natur sein kann (siehe **Abbildung 4.7.2-1**). In **Tabelle 4.7.2-1** sind die einzelnen Methoden hinsichtlich ihrer angelegten Kraft, der Einflußgröße auf die Retention und der trennbaren Größenbereiche aufgeführt<sup>60,67,68,69,70,71</sup>.

Der Vorteil der FFF gegenüber anderen Trennmethode n liegt in dem großen Anwendungsbereich. Die Trennung kann in wäßriger oder organischer Lösung erfolgen. Die Fraktionierung ist hinsichtlich eines breiten Molmassenspektrums von  $10^3$  bis  $10^{18}$  g/mol möglich, wobei insbesondere der hochmolekulare Bereich für die Polymeranalytik interessant ist. Ein wesentliches Unterscheidungsmerkmal der FFF gegenüber der SEC ist, daß bei der FFF keine stationäre Phase erforderlich ist. Damit werden Wechselwirkungen die zur Adsorption oder Degradation führen, ausgeschlossen.

Die thermische Feld-Fluß Fraktionierung (ThFFF)<sup>72</sup> wird hauptsächlich mit organischen Lösungsmitteln betrieben, da Substanzen hier im Vergleich zu wäßrigen Lösungsmitteln

<sup>59</sup> Gunderson, J. J., Giddings, J. C., „*Field-Flow Fractionation*“, in: „*Comprehensive Polymer Science*“, Booth, C., Price, C. (Hrsg.), Vol. I Polymer Characterization, Pergamon Press Oxford, **1989**, 279.

<sup>60</sup> Caldwell, K. D., „*Field-Flow Fractionation*“, *Anal. Chem.*, **60**, **1988**, 959 A.

<sup>61</sup> Giddings, J. C., Graff, K. A., Caldwell, K. D., Myers, M. N., „*Field-Flow Fractionation: Promising approach for the separation and characterization of macromolecules*“, ACS Advances in Chemistry Series, No. 203, Craver, C. D. (Hrsg.), **1983**, 257.

<sup>62</sup> Janca, J., Kleparnik, K., Jahnova, V., Chmelik, J., „*Progreß in Field-Flow Fractionation: Theory, Methodology and Applications*“, *J. Liq. Chrom.* **7**, **1984**, 1.

<sup>63</sup> Ratanathanawongs, S. K., Giddings, J. C., „*Particle Size Analysis using Flow-Field Fractionation*“, in: „*Chromatography of Polymers: Characterization by SEC and FFF*“, Provder, T. (Hrsg.), ACS Symposium Series 521, **1993**, 13.

<sup>64</sup> Schimpf, M. E., „*Advances in field-flow fractionation for polymer analysis*“, *Trends Polym. Sci.* **4**, **1996**, 114.

<sup>65</sup> Janca, J., „*Field-Flow Fractionation: Analysis of Macromolecules and Particles*“, *Chromatographic Science-Series 39*, **1988**, 336.

<sup>66</sup> Giddings, J. C., „*Separation using perpendicular flow, F(+): field-flow fractionation, chromatography and related methods*“, *Unified Separation Science*, J. Wiley & Sons New York, **1991**, 189.

<sup>67</sup> Schauer, T., „*Feldflußfraktionierung*“, *GIT Fachz. Lab.* **9**, **1993**, 739.

<sup>68</sup> Giddings, J. C., „*Field-Flow Fractionation: Analysis of Macromolecular, Colloidal, and Particulate Materials*“, *Science* **260**, **1993**, 1456.

<sup>69</sup> Johann, C., „*FFF zur Charakterisierung von Polymeren und Partikeln*“, *CLB Chemie in Labor und Technik* **47**, **1996**, 355.

<sup>70</sup> Myers, M. N., „*Overview of Field-Flow Fractionation*“, *J. Microcolumn Sep.* **9**, **1997**, 151.

<sup>71</sup> Cölfen, H., Antonietti, M., „*Field-Flow Fractionation Techniques for Polymer and Colloid Analysis*“, *Adv. Polym. Sci.* **150**, **1999**, 67.

<sup>72</sup> Schimpf, M. E., „*Characterization of Polymers by thermal field-flow fractionation*“, *J. Chrom.* **517**, **1990**, 405.

höhere thermische Diffusionskoeffizienten aufweisen. Die Trennung erfolgt dabei aufgrund unterschiedlicher Molmasse und nach der chemischen Zusammensetzung.

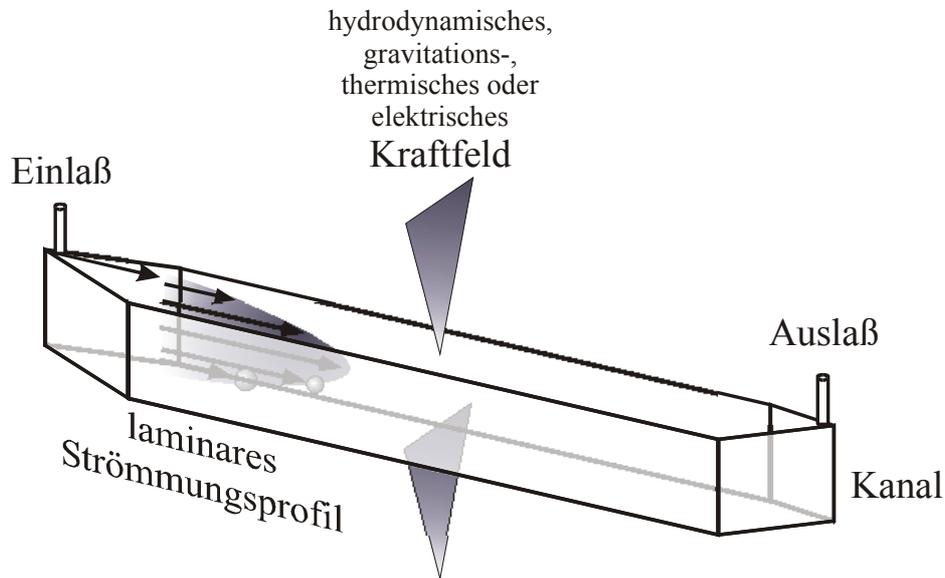


Abbildung 4.7.2-1 Allgemeine schematische Darstellung der Feld-Fluß Fraktionierung mit den unterschiedlich möglichen Kraftfeldern.

Tabelle 4.7.2-1 Zusammenstellung der verschiedenen FFF-Methoden mit den Einflußgrößen, der Art der Trennung und dem jeweiligen Anwendungsbereich hinsichtlich Partikelgrößen bzw. Molmasse.

Kraft	Methode	Einflußgröße auf die Retention	Trennung nach	Größenbereich [Partikel]; [Molmassen]
Temperaturgradient	Thermische FFF	Diffusionskoeffizient $D$ , thermischer Diffusionskoeffizient $D_T$	Molmasse, chem. Zusammensetzung	10 nm – 100 nm; $10^4 - 10^8$ g/mol
Gravitationsfeld	Sedimentations FFF	Diffusionskoeffizient $D$ , Dichteunterschied $\Delta\rho$	effektive Masse	50 nm – 100 $\mu$ m; $> 10^6$ g/mol
elektrisches Feld	Elektrische FFF	Diffusionskoeffizient $D$ , elektrische Mobilität $\mu$	Probenladung	$> 10$ nm; $10^8 - 10^{16}$ g/mol
Querfluß	Fluß FFF	Diffusionskoeffizient $D$	hydrodynamischer Radius	10 nm – 100 $\mu$ m; $10^4 - 10^{18}$ g/mol

Die Sedimentations Feld-Fluß Fraktionierung (SFFF)<sup>73,74</sup> ist erst für Partikel mit einem Durchmesser ab 50 nm geeignet. Dabei ist die Trennleistung von der Dichtedifferenz zwischen Partikel und Lösungsmittel anhängig.

Die elektrische Feld-Fluß Fraktionierung (EIFFF) bietet sich insbesondere bei geladenen Proben an, so z.B. bei Proteinen mit unterschiedlichen isoelektrischen Punkten<sup>75,76,77</sup>. Sie ist jedoch aufgrund verschiedener Probleme (wie beispielsweise relativ kleine thermische Diffusionskoeffizienten) nicht derart etabliert wie die anderen Methoden der FFF.

Die Fluß Feld-Fluß Fraktionierung (FFFF)<sup>73,78,79</sup> stellt die vielseitigste Methode innerhalb der FFF-Gruppe dar. So bietet sie über einen großen Molmassenbereich eine gute Auflösung. Die Trennung erfolgt in Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten  $D$ , der wiederum vom Radius eines Teilchens abhängig ist. Die FFFF unterscheidet zwei Varianten, die symmetrische und die asymmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung<sup>71,80,81</sup>, die sich im wesentlichen durch die Geometrie des Kanals unterscheiden. Im folgendem soll näher auf die FFFF eingegangen werden wobei zunächst die symmetrische und anschließend die asymmetrische FFFF beschrieben werden.

#### **Trennprinzip der symmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung:**

Die symmetrische FFFF hat als Hauptbestandteil einen symmetrisch geformten Kanal, der sich aus einem Kanaldeckel, in dem eine poröse Fritte eingelassen ist, einem Spacer (Abstandshalter zwischen 100 und 500  $\mu\text{m}$ ), einer Trennmembran und einer unteren

---

<sup>73</sup> Giddings, J. C., Yang, F. J., Myers, M. N., „*Theoretical and Experimental Characterization of Flow Field-Flow Fractionation*“, Anal. Chem. 48, **1976**, 1126.

<sup>74</sup> Kirkland, J. J., Yau, W. W., Doerner, W. A., Grant, J. W., „*Sedimentation field flow fractionation of macromolecules and colloids*“, Anal Chem. 52 (12), **1980**, 1944.

<sup>75</sup> Caldwell, K. D., Gao, Y.-S., „*Electrical field-flow fractionation in particle separation. Monodisperse standards*“, Anal. Chem 65, **1993**, 1764.

<sup>76</sup> Dunkel, M., Tri, N., Beckett, R., Caldwell, K.D., „*Electrical FFF: A Tool for Characterization of Colloidal Adsorption Complexes*“, J. Microcol. Sep. 9, **1997**, 177.

<sup>77</sup> Tri, N., Caldwell, K. D., Beckett, R., „*Development of Electrical Field-Flow Fractionation*“, Anal. Chem. 72, **2000**, 1823.

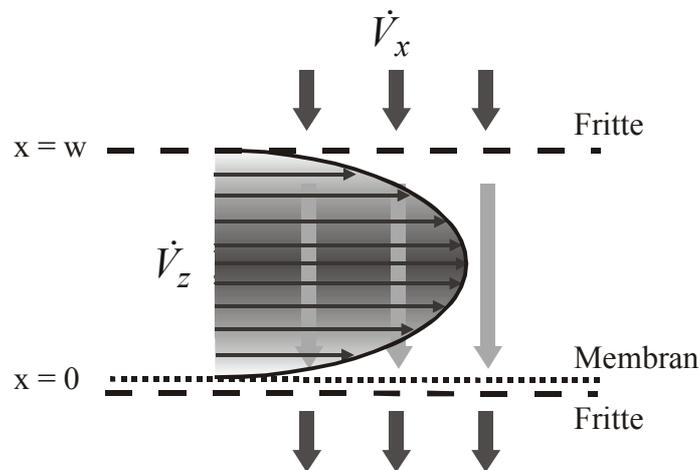
<sup>78</sup> Lee, H.-L., Reis, J. F. K., Dohner, J., Lightfoot, E. N., „*Single-phase chromatography: solute retardation by ultrafiltration and electrophoresis*“, AIChE J. 20, **1974**, 776.

<sup>79</sup> Giddings, J. C., Yang, F. J., Myers, M. N., „*Theoretical and Experimental Characterization of Flow Field-Flow Fractionation*“, Anal. Chem. 48, **1976**, 1126.

<sup>80</sup> Giddings, J. C., Yang, F. J., Myers, M. N., „*Flow Field-Flow Fractionation: a versatile new separation method*“, Science 193, **1976**, 1244.

<sup>81</sup> Wahlund, K.-G., Giddings, J. C., „*Properties of an Asymmetric Flow Field-Flow Fractionation Channel Having One Permeable Wall*“, Anal. Chem. 59, **1987**, 1332.

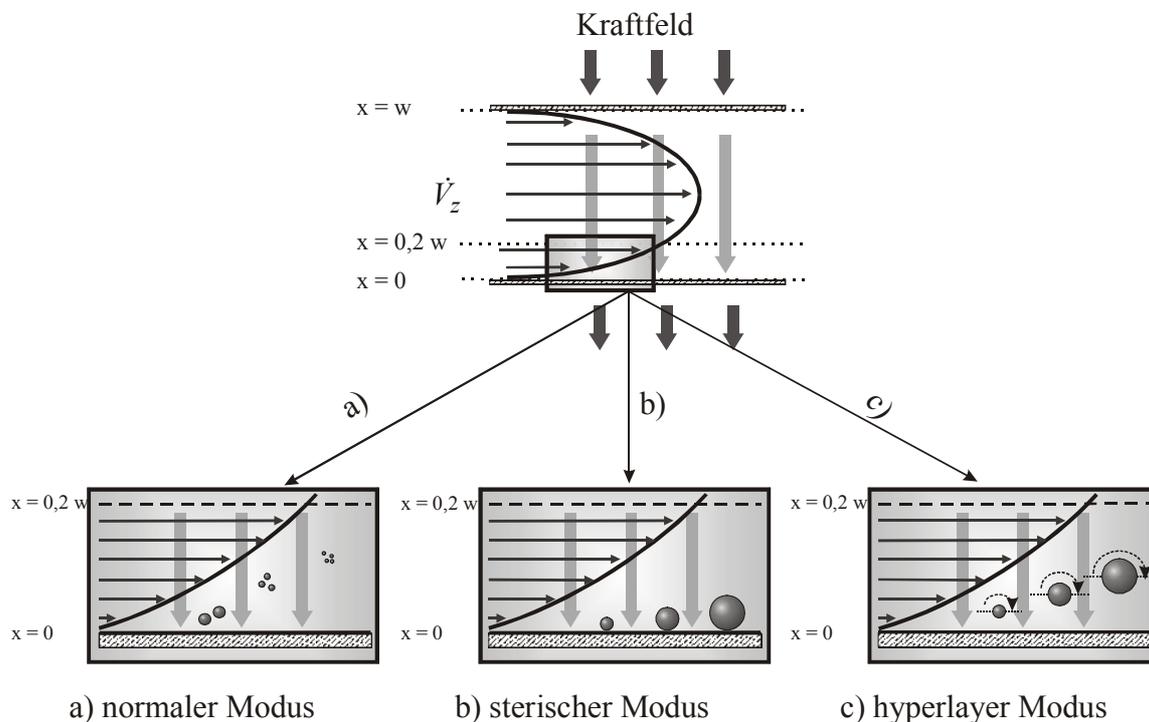
Abschlußplatte, wie der Deckel mit einer porösen Fritte ausgestattet, zusammensetzt. Der Aufbau ist schematisch in **Abbildung 4.7.2-2** zu sehen.



*Abbildung 4.7.2-2 Schematischer Aufbau der symmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung,  $\dot{V}_z$  ist hier der Kanalfuß,  $\dot{V}_x$  der angelegte Querfluß.*

Der Kanal wird von einem Fluß mit parabolischen Profil durchflossen. Senkrecht zu diesen wird ein zweiter Fluß (Querfluß) durch das Frittensystem in den Kanal gegeben, der das trennende Kraftfeld erzeugt. In der Injektionsphase wird die Probenlösung in den Kanal injiziert, wobei der Kanalfuß abgestellt wird. Die Probe wird somit aufgrund des Querflusses auf die Membran, die sogenannten Akkumulationswand, gedrückt. Nach Probeneingabe wird der Kanalfuß wieder hinzugeschaltet und die Teilchen erfahren beide Flüsse. Die Diffusionskoeffizienten wirken entgegen dem Querfluß. Aufgrund ihrer Diffusionskoeffizienten, die in der Regel mit steigendem Radius kleiner werden, „lösen“ sich die Teilchen von der Akkumulationswand. In Abhängigkeit ihres Diffusionskoeffizienten kommen die Teilchen in unterschiedliche Kanalhöhen, wo aufgrund des parabolischen Geschwindigkeitsprofils unterschiedlich schnelle Flußgeschwindigkeiten vorliegen. Die Flußgeschwindigkeit nimmt ausgehend von der Akkumulationswand bis zur Kanalmitte zu. Die Trennung der Probenbestandteile findet dabei im unteren Bereich, ca. ein Fünftel über der Akkumulationswand des Kanals statt. Die kleinen Teilchen mit dem größeren Diffusionskoeffizienten gelangen in Bereiche höherer Flußgeschwindigkeiten und werden schneller aus dem Kanal ausgetragen als die größeren Teilchen. Somit

liegt die Elutionsreihenfolge umgekehrt wie im Fall der SEC vor: die kleinen Teilchen eluieren vor den großen. Der Trennmechanismus ist in **Abbildung 4.7.2-3** dargestellt.



*Abbildung 4.7.2-3 Schematische Darstellung des Trennprinzips der FFFF. Der Kanal wird von einem Fluß mit parabolischen Profil durchströmt. Senkrecht dazu ist ein Querfluß angelegt. Die Trennung der Substanzen erfolgt im unteren Fünftel über der Akkumulationswand. Bei den Trennmechanismen werden drei Typen unterschieden: a) normaler Modus, b) sterischer Modus, c) hyperlayer Modus.*

Für zu große Teilchen ( $d < \text{ca. } 1 \mu\text{m}$ ), die einem zu starken Kraftfeld ausgesetzt sind oder deren Diffusionskoeffizienten zu gering sind, kann es zur Umkehr der Elutionsreihenfolge kommen<sup>82</sup>. Hierbei werden die Teilchen gegen die Akkumulationswand gedrückt. Bei dem sogenannten sterischen Modus<sup>83,84</sup> erfolgt die Trennung aufgrund der unterschiedlichen Höhen der Teilchen. Die größeren Teilchen ragen in Gebiete höherer

<sup>82</sup> Myers, M. N., Giddings, J. C., „*Properties of the Transition from Normal to Steric Field-Flow Fractionation*“, *Anal. Chem.* **54**, **1982**, 2284.

<sup>83</sup> Giddings, J. C., „*Displacement and Dispersion of Particles of Finite Size in Flow Channels with Lateral Forces. Field-Flow Fractionation and Hydrodynamic Chromatography*“, *Sep. Sci. Technol.* **13**, **1978**, 241.

<sup>84</sup> Giddings, J. C., Myers, M. N., „*Steric Field-Flow Fractionation: A new method for separating 1 – 100  $\mu\text{m}$  Particles*“, *Sep. Sci. Technol.* **13**, **1978**, 637.

Flußgeschwindigkeit und werden schneller ausgetragen. Gleiches ist im Prinzip bei dem hyperlayer<sup>85,86</sup> genannten Modus der Fall. Hierbei erfahren die Teilchen aufgrund der Kanalstromes eine hydrodynamische Auftriebskraft, die für große Teilchen größer ist als für kleine. Dadurch wird der sterische Effekt sogar noch verstärkt. Da eine experimentelle Unterscheidung des sterischen und des hyperlayer Modus nicht möglich ist, spricht man im Fall einer umgekehrten Elutionsreihenfolge auch von einem steric-hyperlayer Modus.

**Theorie der symmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung:**

Die Fluß Feld-Fluß Fraktionierung weist für den oben beschriebenen Trennverlauf nach dem normalen Modus eine geschlossene Theorie<sup>73,80,87,88</sup> auf und ist eine Absolutmethode zur Bestimmung von Diffusionskoeffizienten. Im Folgenden werden die mathematischen Zusammenhänge beschrieben.

Das Verhältnis der mittleren Geschwindigkeit  $\bar{v}$  der Probenkomponente zur mittleren Geschwindigkeit des Lösungsmittels  $\langle v(x) \rangle$  wird als Retentionsverhältnis  $R$  bezeichnet und beschreibt nach **Gleichung 4.7.2-1** die Verweildauer der jeweiligen Komponente im System. Aus Messungen kann man das Retentionsverhältnis  $R$  auch aus dem Verhältnis von Totzeit  $t_0$  zu Retentionszeit  $t_R$  bzw. als Verhältnis von Totvolumen  $V_0$  zu Retentionsvolumen  $V_R$  erhalten.

$$R = \frac{\bar{v}}{\langle v(x) \rangle} = \frac{t_0}{t_R} = \frac{V_0}{V_R} \qquad \text{Gleichung 4.7.2-1}$$

Die Beschaffenheit des Kanals ist so geartet, daß sich innerhalb des parabolischen Strömungsprofils eine laminare Strömung ausbildet. Die Geschwindigkeit  $v(x)$  in einer laminaren Schicht ist – wie **Gleichung 4.7.2-2** zu entnehmen - dabei abhängig von der Kanalhöhe  $w$ , vom Abstand  $x$  zur Akkumulationswand, der Viskosität  $\eta$  des Lösungsmittels und vom Druckabfall  $\Delta p$  entlang der Kanallänge  $L$ .

---

<sup>85</sup> Giddings, J. C., „Hyperlayer Field-Flow Fractionation“, Sep. Sci. Technol. 18, **1983**, 257.

<sup>86</sup> Giddings, J. C., „Hyperlayer Field-Flow Fractionation: State of Development“, American Laboratory, **1992**, 20 D.

<sup>87</sup> Giddings, J. C., „Nonequilibrium Theory of Field-Flow Fractionation“, J. Chem. Phys. 49, **1968**, 81.

<sup>88</sup> Giddings, J. C., Lin, G.-C., Myers, M. N., „Fractionation and Size Distribution of Water Soluble Polymers by Flow Field-Flow Fractionation“, J. Liq. Chrom. 1 (1), **1978**, 1.

$$v(x) = \frac{\Delta p}{2 \cdot \eta \cdot L} \cdot x \cdot (w - x) \quad \text{Gleichung 4.7.2-2}$$

Aus der Geschwindigkeit  $v(x)$  einer laminaren Schicht ergibt sich die mittlere Geschwindigkeit  $\langle v(x) \rangle$  durch Integration über die Kanalhöhe  $w$ .

Bei der Bestimmung der Geschwindigkeit der Teilchen muß der Querfluß  $\dot{V}_x$  berücksichtigt werden, da dieser die Teilchen nach unten in Richtung Akkumulationswand und somit in Bereiche geringerer Geschwindigkeit drückt. Die Driftgeschwindigkeit  $u_x$  (**Gleichung 4.7.2-3**) ergibt sich aus dem Verhältnis vom angelegten Querfluß  $\dot{V}_x$  zur Kanalfäche  $A$ .

$$u_x = \frac{\dot{V}_x}{A} \quad \text{Gleichung 4.7.2-3}$$

Die unterschiedlichen Teilchen diffundieren in Abhängigkeit ihres Diffusionskoeffizienten  $D$  entgegen der Richtung des angelegten Kraftfeldes. Für die Teilchen ergibt sich in Abhängigkeit ihres charakteristischen Diffusionskoeffizienten  $D$  ein bestimmter mittlerer Abstand von der Akkumulationswand, die sogenannte Schichtlage  $l$  mit  $l = D/u_x$ . Diese wird auf die reduzierte Größe, das Retentionsparameter  $\lambda$  zurückgeführt, wobei  $\lambda$  das Verhältnis von Schichtlage  $l$  zur Kanalhöhe  $w$  ( $\lambda = l/w$ ) ist.

Für den Gleichgewichtszustand ist die aus dem angelegten Querfluß resultierende Kraft, die sich aus der Driftgeschwindigkeit  $u_x$  und der Konzentration  $c$  ergibt, gleich dem negativen, also entgegengerichteten Diffusionskoeffizienten  $D$  und dem Konzentrationsgefälle an einer bestimmten Stelle ( $dc/dx$ ).

$$u_x \cdot c = -D \cdot \frac{dc}{dx} \quad \text{Gleichung 4.7.2-4}$$

Die Konzentration an einer bestimmten Stelle  $c(x)$  erhält man durch Integration von **Gleichung 4.7.2-4**. Der Ausdruck für das Konzentrationsprofil läßt sich in Abhängigkeit von der Probenkonzentration an der Akkumulationswand  $c_0$  **Gleichung 4.7.2-5** entnehmen.

$$c(x) = c_0 \cdot \exp\left(-\frac{x \cdot u_x}{D}\right) = c_0 \cdot \exp\left(-\frac{x}{\lambda \cdot w}\right) \quad \text{Gleichung 4.7.2-5}$$

Die mittlere Strömungsgeschwindigkeit  $\bar{v}$  eines Probenbestandteils ergibt sich aus dem Verhältnis von Integration aller Geschwindigkeiten  $v(x)$  und der Probenkonzentration  $c(x)$  zur Integration über die Konzentration  $c(x)$  über die gesamte Kanalhöhe  $w$  (**Gleichung 4.7.2-6**).

$$\bar{v} = \frac{\int_0^w c_0 \cdot \exp\left(-\frac{x}{\lambda \cdot w}\right) \cdot v(x) dx}{\int_0^w c(x) dx} = \frac{\int_0^w c(x) v(x) dx}{\int_0^w c(x) dx} \quad \text{Gleichung 4.7.2-6}$$

Durch Einsetzen der mittleren Geschwindigkeit  $\bar{v}$  aus **Gleichung 4.7.2-6** in **Gleichung 4.7.2-1** ergibt sich das Retentionsverhältnis  $R$  zu **Gleichung 4.7.2-7**.

$$R = \frac{\bar{v}}{\langle v(x) \rangle} = \frac{\int_0^w c(x) v(x) dx}{\int_0^w c(x) dx \cdot \int_0^w v(x) dx} = 6 \cdot \lambda \cdot \left[ \coth\left(\frac{1}{2 \cdot \lambda}\right) - 2 \cdot \lambda \right] \quad \text{Gleichung 4.7.2-7}$$

Für Retentionsverhältnisse  $R \ll 1$  ergibt sich im Grenzfall von  $\lambda \rightarrow 0$   $R = 6 \cdot \lambda$ , was eine ausreichend gute Näherung darstellt<sup>81,89</sup>. Mit dieser Näherung erhält man somit für die Retentionszeit  $t_R$  bzw. für das Retentionsvolumen  $V_R$  den Zusammenhang nach **Gleichung 4.7.2-8**.

$$t_R = \frac{t_o}{6} \cdot \frac{w}{l} = \frac{t_o \cdot w}{6} \cdot \frac{u_x}{D} = \frac{t_o \cdot w}{6 \cdot D} \cdot \frac{\dot{V}_x}{A} = \frac{w^2 \cdot t_o}{6 \cdot D} \cdot \frac{\dot{V}_x}{V_0} = \frac{w^2}{6 \cdot D} \cdot \frac{\dot{V}_x}{\dot{V}_z} \quad \text{Gleichung 4.7.2-8}$$

$$V_R = \frac{V_0}{R} = \frac{V_0}{6 \cdot \lambda} = \frac{V_0}{6} \cdot \frac{w}{l} = \frac{V_0 \cdot w}{6} \cdot \frac{u_x}{D} = \frac{V_0 \cdot w}{6 \cdot D} \cdot \frac{\dot{V}_x}{A} = \frac{w^2}{6 \cdot D} \cdot \dot{V}_x$$

Aus **Gleichung 4.7.2-8** erhält man den Diffusionskoeffizienten  $D$  nach **Gleichung 4.7.2-9**.

<sup>89</sup> Litzén, A., Wahlund, K.-G., „Zone Broadening and Dilution in Rectangular and Trapezoidal Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation Channels“, Anal. Chem. 63, 1991, 1001.

$$D = \frac{w^2}{6 \cdot t_R} \cdot \frac{\dot{V}_x}{\dot{V}_Z} = \frac{w^2}{6 \cdot V_R} \cdot \dot{V}_x \quad \text{Gleichung 4.7.2-9}$$

Zwischen dem Diffusionskoeffizienten  $D$  und dem hydrodynamischen Radius  $R_H$  kann mit Hilfe der Stokes-Einstein-Gleichung eine Beziehung (**Gleichung 4.7.2-10**) geknüpft werden. Hierbei werden die Boltzmann-Konstante  $k$ , die Temperatur  $T$  und die Viskosität des Lösungsmittels  $\eta$  berücksichtigt.

$$R_H = \frac{k \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot D} \quad \text{Gleichung 4.7.2-10}$$

Über bekannte D-M-Beziehungen kann die Molmasse der einzelnen Fraktionen berechnet werden.

Für polydisperse Proben mit kleinen und großen Probenanteilen bietet die Fluß Feld-Fluß Fraktionierung die Möglichkeit, den Querfluß zu variieren. Für kleine Teilchen wird ein hoher Querfluß benötigt, um eine gute Trennung zu erzielen. Für große Teilchen ist hingegen ein niedrigerer Querfluß erforderlich, da zum einen bei zu hohem Querfluß die Analysezeit zu lang wird und zum anderen die Probenbestandteile eine zu hohe Verdünnung für eine ausreichende Detektion erfahren. Für solche Proben eignet sich ein im Verlauf der Trennung abnehmender Querfluß<sup>90</sup>. Bei linear abnehmenden Querfluß<sup>91</sup>  $\dot{V}_x$  wird er von einem Fluß  $\dot{V}_{x,s}$  von zur Zeit  $t_s$  bis auf einen Fluß  $\dot{V}_x$  von null zur Zeit  $t_e$  abgesenkt. Für einen Querfluß  $\dot{V}_x(t)$  zur Zeit  $t$  ergibt sich **Gleichung 4.7.2-11**.

$$\dot{V}_x(t) = \dot{V}_{x,s} \cdot \left( 1 - \frac{t - t_s}{t_e - t_s} \right) \quad \text{für } t_s < t < t_e \quad \text{Gleichung 4.7.2-11}$$

Unter Berücksichtigung des linear abnehmenden Querflusses ergibt sich für den Diffusionskoeffizienten nach **Gleichung 4.7.2-9** nun der Ausdruck laut **Gleichung 4.7.2-12**.

<sup>90</sup> Williams, P. S., Giddings, J. C., „*Theory of Filed-Programmed Field-Flow Fractionation with Corrections for Steric Effects*“, Anal. Chem. 66, 1994, 4215.

<sup>91</sup> Wahlund, K.-G., Winegarner, H. S., Caldwell, K. D., Giddings, J. C., „*Improved Flow Field-Flow Fractionation System Applied to Water-Soluble Polymers: Programming, Outlet Stream Splitting, and Flow Optimization*“, Anal. Chem. 58, 1988, 573.

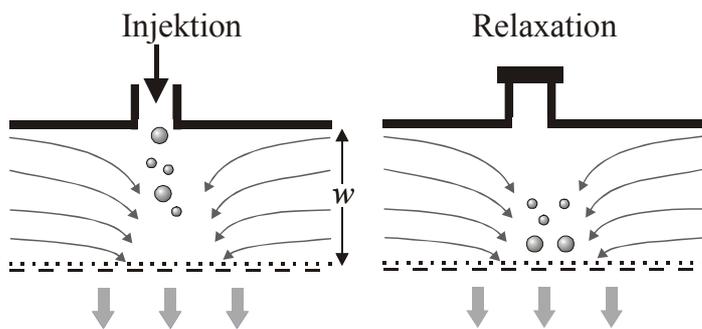
$$D = \frac{w^2}{6} \cdot \frac{\dot{V}_{x,s}}{\dot{V}_z} \cdot \left[ t_s + (t_e - t_s) \cdot \ln \left( \frac{t_e - t_s}{t_e - t_R} \right) \right]^{-1} \quad \text{Gleichung 4.7.2-12}$$

**Trennprinzip der asymmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung:**

Die asymmetrische Form des Trennkanals stellt eine von Wahlund und Giddings durchgeführte Weiterentwicklung der symmetrischen FFFF dar<sup>81,92</sup>. Bei dieser Bauform der FFFF ist in dem oberen Kanaldeckel keine Fritte eingelassen, das senkrechte Kraftfeld wird nur durch den Austritt von Lösungsmittel durch die Fritte in der Kanalunterseite bewirkt. Der Kanal hat einen Einlaß und zwei Ausgänge. Bei dieser Form der FFFF wird das Kraftfeld erzeugt, indem der Kanalfluß in einen axialen und einen Querfluß aufgeteilt wird. Damit können Kanal- und Querfluß nicht unabhängig voneinander geregelt werden.

Ein Vorteil gegenüber der symmetrischen FFFF ist im Fokussierungsmodus die Möglichkeit einer Aufkonzentrierung der Probe an einer gewünschten Startposition (**Abbildung 4.7.2-4**), was als Injektions-Relaxations-Konzentrations-Verfahren bezeichnet wird. Da hier schon der Querfluß wirkt, wird die Probe schon während der Injektionsphase in die Gleichgewichtsposition gebracht.

Fokussierungsmodus



Elutionsmodus

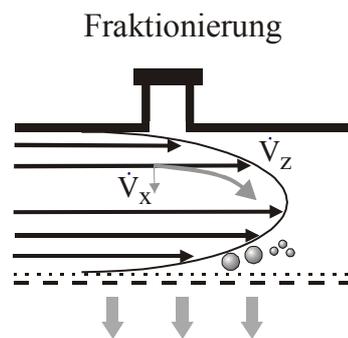


Abbildung 4.7.2-4 Schematische Darstellung des Fokussierungsmodus, der sich in Injektion und Relaxation aufteilt und Elutionsmodus bei der asymmetrischen FFFF.

<sup>92</sup> Wahlund, K.-G., Litzén, A., „Application of an Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation Channel to the Separation and Characterization of Proteins, Plasmids, Plasmid Fragments, Polysaccharides and Unicellular Algae“, J. Chromatogr. 461, 1989, 73.

Das Prinzip der Trennung der Probenbestandteile ist das gleiche wie im Falle der symmetrischen FFFF.

Aufgrund der anderen Kanalgeometrie muß die Theorie der aFFFF leicht abgewandelt werden, was durch die im folgenden dargestellten mathematischen Zusammenhänge aufgezeigt werden soll.

**Theorie der asymmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung:**

In der Theorie<sup>81,89,93</sup> der aFFFF muß zum einen die Geometrie des Kanals und zum anderen der Flußgradient des axialen Flusses berücksichtigt werden. In **Abbildung 4.7.2-5** ist schematisch der asymmetrische Kanal mit den im folgenden verwendeten Abstandsbezeichnungen wiedergegeben.

Die Driftgeschwindigkeit  $u_x$  des axialen Flusses ergibt sich aus der Geschwindigkeit  $u_0$  an der Akkumulationswand, dem Abstand  $x$  von der Akkumulationswand sowie der Kanalhöhe  $w$  nach **Gleichung 4.7.2-13**. Dabei hat die Driftgeschwindigkeit ein negatives Vorzeichen, da der Abstand  $x$  von der Akkumulationswand gemessen wird.

$$u_x = -|u_0| \cdot \left( 1 - \frac{3 \cdot x^2}{w^2} + \frac{2 \cdot x^3}{w^3} \right) \quad \text{Gleichung 4.7.2-13}$$

**Gleichung 4.7.2-14** beschreibt analog zu **Gleichung 4.7.2-5** das in dem asymmetrischen Kanal erhaltene Konzentrationsprofil.

$$c = c_0 \cdot \exp \left[ \frac{-|u_0| \cdot x}{D} \cdot \left( 1 - \frac{x^2}{w^2} + \frac{x^3}{2 \cdot w^3} \right) \right] \quad \text{Gleichung 4.7.2-14}$$

Daraus ergibt sich das Retentionsverhältnis zu **Gleichung 4.7.2-15**.

$$R = \frac{6}{w} \cdot \frac{\int_0^w \exp[(-x/\lambda \cdot w)B(x)] \cdot x dx - \frac{1}{w} \cdot \int_0^w \exp[(-x/\lambda \cdot w)B(x)] \cdot x^2 dx}{\int_0^w \exp[(-x/\lambda \cdot w)B(x)] dx} \quad \text{Gleichung 4.7.2-15}$$

<sup>93</sup> Litzén, A., „Separation Speed, Retention, and Dispersion in Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation as Function of Channel Dimensions and Flow Rates“, Anal. Chem. 65, 1993, 461.

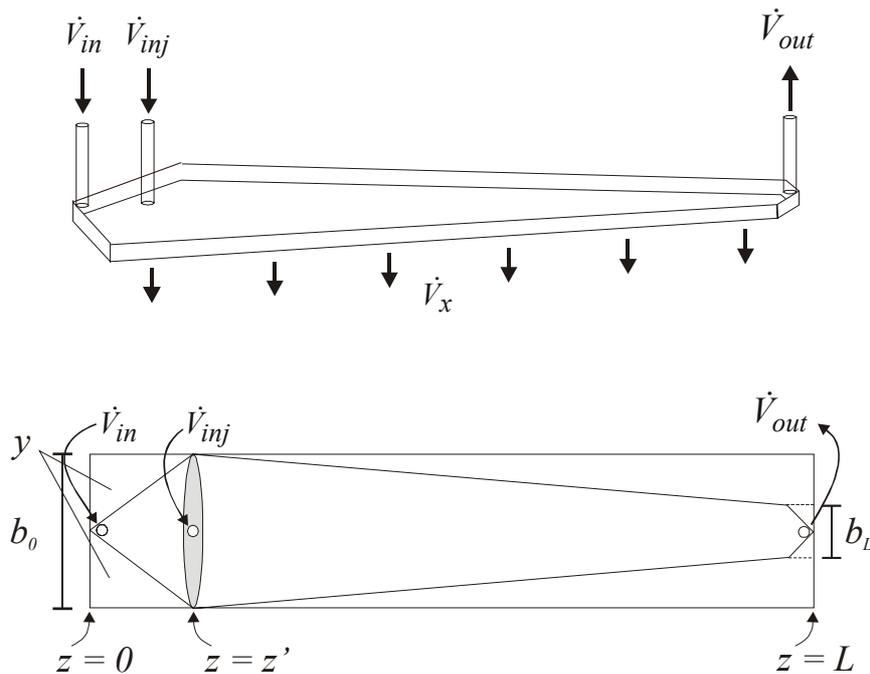


Abbildung 4.7.2-5 Schematische Darstellung des asymmetrischen Kanals mit einer Seitenansicht (oben) und der Aufsicht (unten).

Der Term  $B(x)$  beschreibt die Änderung der Querflußgeschwindigkeit in Abhängigkeit vom Abstand  $x$  zur Akkumulationswand und ist laut **Gleichung 4.7.2-16** beschrieben.

$$B(x) = 1 - \frac{x^2}{w^2} + \frac{x^3}{2 \cdot w^3} \quad \text{Gleichung 4.7.2-16}$$

**Gleichung 4.7.2-15** ist nur schwer zu lösen, doch mit einem Verhältnis von  $x/w < 0,1$  ist Term  $B(x)$  vernachlässigbar. Damit geht diese Gleichung in **Gleichung 4.7.2-7** für das Retentionsverhältnis über und der Diffusionskoeffizient läßt sich nach **Gleichung 4.7.2-8** wie bei der symmetrischen FFFF berechnen.

Die mittleren Flußgeschwindigkeit  $\langle v(x) \rangle$  nimmt in einem asymmetrischen Kanal entlang des Kanals ab. Mit der mittleren Flußgeschwindigkeit  $\langle v(x) \rangle_{z=0}$  am Kanaleinlaß läßt sie sich für jeden Punkt  $z$  entlang eines rechwinkligen Kanals nach **Gleichung 4.7.2-17** berechnen.

$$\langle v(x) \rangle = \langle v(x) \rangle_{z=0} - \frac{|u_0|}{w} \cdot z \quad \text{Gleichung 4.7.2-17}$$

Bei einem trapezförmig gebauten Kanal nimmt die Kanalbreite mit der Kanallänge ab, die Flußgeschwindigkeit lautet daher wie in **Gleichung 4.7.2-18** dargestellt.

$$\langle v(x) \rangle = \frac{\dot{V}_{in} - |u_0| \cdot A(z)}{w \cdot b(z)} \cdot z \quad \text{Gleichung 4.7.2-18}$$

Hierbei ist  $\dot{V}_{in}$  die Flußrate am Kanaleinlaß,  $A(z)$  die Fläche der Akkumulationswand vom Einlaß bis zum betrachteten Punkt  $z$  und  $b(z)$  die Kanalbreite am Punkt  $z$ , die durch **Gleichung 4.7.2-19** gegeben ist. Das Produkt der Driftgeschwindigkeit  $u_0$  und der Fläche der Akkumulationswand  $A(z)$  beschreibt den Verlust des Kanalflusses über der Fläche von  $A(z)$ .

$$b(z) = b_0 - z \cdot \frac{(b_0 - b_L)}{2 \cdot L} \quad \text{Gleichung 4.7.2-19}$$

Aus der Kanalbreite  $b(z)$  erhält man durch Integration die Akkumulationsfläche  $A(z)$ .

Für die Flußgeschwindigkeit  $\langle v(x) \rangle$  ergibt sich **Gleichung 4.7.2-20**.

$$\langle v(x) \rangle = \frac{\dot{V}_{in} - |u_0| \cdot \int_0^z b(z) dz}{w \cdot \left( b_0 - \frac{z \cdot (b_0 - b_L)}{L} \right)} = \frac{\dot{V}_{in} - |u_0| \cdot \left( b_0 \cdot z - \frac{z^2 \cdot (b_0 - b_L)}{2 \cdot L} \right)}{w \cdot \left( b_0 - \frac{z \cdot (b_0 - b_L)}{L} \right)} \quad \text{Gleichung 4.7.2-20}$$

Die Totzeit  $t_0$  des asymmetrischen Kanals muß aufgrund des Gradienten des Kanalflusses zur Berechnung der Retentionszeit bekannt sein. Sie kann mit dem Abstand von Kanaleinlaß zum Fokussierungspunkt  $z'$  und der verminderten Fläche  $y$  (der Akkumulationswand wegen des spitz zulaufenden Kanals) nach **Gleichung 4.7.2-21** berechnet werden.

$$t_0 = \frac{V_0}{\dot{V}_x} \ln \left( 1 + \frac{\dot{V}_x}{\dot{V}_{out}} \cdot \left[ 1 - \frac{w \cdot (b_0) \cdot z'^2 - \frac{b_0 - b_L}{2 \cdot L} \cdot z'^2 - y}{V_0} \right] \right) \quad \text{Gleichung 4.7.2-21}$$

Der Trägerfluß tritt am Kanaleinlaß ein, und verläßt ihn durch den Auslaß und die Akkumulationswand. Die Messung des Flusses erfolgt am Kanalauslaß. Daher ergibt sich

der Querfluß  $\dot{V}_x$  aus der Differenz zwischen dem Fluß am Einlaß  $\dot{V}_{in}$  und dem am Auslaß  $\dot{V}_{out}$  (**Gleichung 4.7.2-22**).

$$\dot{V}_x = \dot{V}_{in} - \dot{V}_{out} \quad \text{Gleichung 4.7.2-22}$$

#### 4.8 Kopplung von Methoden zur Bestimmung der absoluten Molmasse sowie deren Verteilung

Wie bereits erwähnt, ist die Molmasse und deren Verteilung sowie der Trägheitsradius einer Polymerprobe - besonders in Lösung - für die Eigenschaften dieser maßgeblich verantwortlich. Während die Fraktionierung der Polymerprobe mittels Größenausschlußchromatographie zu einer relativen Bestimmung der Molmasse der einzelnen Fraktionen und damit zur Molmassenverteilung führt, kann mit der Fluß Feld-Fluß Fraktionierung als Absolutmethode der Diffusionskoeffizient bestimmt werden, der über bekannte D-M-Beziehungen ebenfalls eine Bestimmung der Molmasse ermöglicht. Im Falle der SEC wird eine geeignete Kalibrierkurve benötigt, bei der FFFF muß der Zusammenhang zwischen dem Diffusionskoeffizienten und der Molmasse bekannt sein. In vielen Fällen schlägt eine genaue Bestimmung der Molmasse aufgrund fehlender Standards oder der Unkenntnis der D-M-Beziehung fehl.

Die Kopplung einer Fraktioniermethode mit der Vielwinkellichtstreuung und einem Konzentrationsdetektor ermöglicht die absolute Bestimmung der Molmasse und des Trägheitsradius sowie deren Verteilungen<sup>94</sup>. Die Lichtstreuung bietet sich insbesondere an, da die Streulichtintensitäten im Durchfluß gemessen werden können. Es wird gewissermaßen während der Messung eine Kalibrierkurve aufgenommen. Des weiteren bietet diese Kopplung die Möglichkeit, Störungen des Trennprozesses zu erkennen, etwa durch Bandenverbreiterungen. In **Abbildung 4.8-1** sind die Fraktioniermethoden gekoppelt mit einem Vielwinkellichtstreuphotometer (multi angle laser light scattering, MALLS) und einem Konzentrationsdetektor (refractive index, RI) dargestellt.

<sup>94</sup> Kulicke, W.-M., Lange, S., Heins, D., „*Advantages of Determining the Molar Mass Distribution of water-soluble Polymers and Polyelectrolytes with FFFF/MALLS and SEC/MALLS*“, in: „*Chromatography of Polymers, Hyphenated and Multidimensional Techniques*“, Provder, T. (Hrsg.), ACS Symposium Series 731, Washington, USA, 1999.

Die Kopplung der SEC mit der Lichtstreuung<sup>95,96,97,98</sup> ist auf dem Gebiet der Polymeranalytik eine etablierte Methode. Die Kopplung einer Methode aus der Gruppe der Feld-Fluß Fraktionierungen mit einer Absolutmethode zur Bestimmung der Molmasse erweitert die Möglichkeiten dieser Technik<sup>99,100,101,102,103,104</sup>. Dabei ist die Kopplung von der FFFF mit der Vielwinkellichtstreuung erstmals 1994 in der Arbeitsgruppe von W.-M. Kulicke<sup>100</sup> durchgeführt worden.

Die SEC bietet dabei im Vergleich zur FFF den Vorteil einer einfachen Handhabung. Nachteilig wirkt sich hingegen aus, daß es entgegen der Theorie zu Wechselwirkungen zwischen Proben- und Säulenfüllmaterial kommen kann.

Die FFF erweitert den Einsatzbereich zur Trennung von Polymeren. So lassen sich auf diesem System neben deutlich höheren Molmassenbereichen als bei der SEC beispielsweise auch Aggregate und Assoziate vermessen<sup>105,106,107,108</sup>. Darüber hinaus sind bei der FFF die experimentellen Meßbedingungen in weiten Grenzen variierbar.

<sup>95</sup> Jackson, C., Nielson, L. M., Wyatt, P. J., „*Characterization of Biopolymers Using a Multi-Angle Light Scattering Detector with Size Exclusion Chromatography*“, J. Appl. Polym. Sci. Appl. Polym. Symp. 43, **1989**, 99.

<sup>96</sup> Wintermantel, M., Schmidt, M., Becker, A., Dorn, R., Kühn, A., Lösch, R., „*Structure determination of macromolecules with the gel-permeation chromatography*“, Nachr. Chem. Tech. Lab. 40 (3), **1992**, 331.

<sup>97</sup> Wyatt, P. J., „*Light scattering and the absolute characterization of macromolecules*“, Anal. Chim. Acta. 272, **1993**, 1.

<sup>98</sup> Wyatt, P. J., Jackson, C., Wyatt, G. K., „*Absolute GPC determinations of molecular weights and sizes from light scattering*“, Am. Lab. 20 (5), **1988**, 88.

<sup>99</sup> Wyatt, P. J., „*Absolute measurement with FFF and light scattering: particles*“, Polym. Mat. Sci. Eng. 65, **1991**, 198.

<sup>100</sup> Roessner, D., Kulicke, W.-M., „*On-Line Coupling of Flow Field-Flow Fractionation and Multi-Angle Laser Light Scattering*“, J. Chromatogr. A. 687, **1994**, 249.

<sup>101</sup> Thielking, H., Roessner, D., Kulicke, W.-M., „*On-Line Coupling of Flow Field-Flow Fractionation and Multi-Angle Laser Light Scattering for the Characterization of Polystyrene Particles*“, Anal. Chem. 67, **1995**, 3229.

<sup>102</sup> Thielking, H., Kulicke, W.-M., „*On-Line Coupling of Flow Field-Flow Fractionation and Multi-Angle Laser Light Scattering for the Characterization of Macromolecules in Aqueous Solution as Illustrated by Sulfonated Polystyrene Samples*“, Anal. Chem. 68, **1996**, 1169.

<sup>103</sup> Thielking, H., Adolphi, U., Kulicke, W.-M., „*Transverse fractionation coupled with light scattering*“, Nachr. Chem. Tech. Lab. 44 (4), **1996**, 370.

<sup>104</sup> Adolphi, U., Kulicke, W.-M., „*Coil Dimensions and conformation of macromolecules in aqueous media from flow field-flow fractionation/multi-angle laser light scattering illustrated by studies on pullulan*“, Polymer 38 (7), **1997**, 1513.

<sup>105</sup> Kulicke, W.-M., Böse, N., „*Bestimmung der Molmassenverteilung sowie der Stabilitätsgrenze von Polyacrylamiden unter Benutzung einer kombinierten Ausschlußchromatographie-Kleinwinkel-Laser-Streulichtphotometer-Anlage*“, Coll. & Polym. Sci. 262, **1984**, 197.

<sup>106</sup> Freifelder, D., „*Applications to biochemistry and molecular biology*“, in: „Phys. Biochem.“, WH Freeman and Co. San Francisco, Kapitel 13, **1982**.

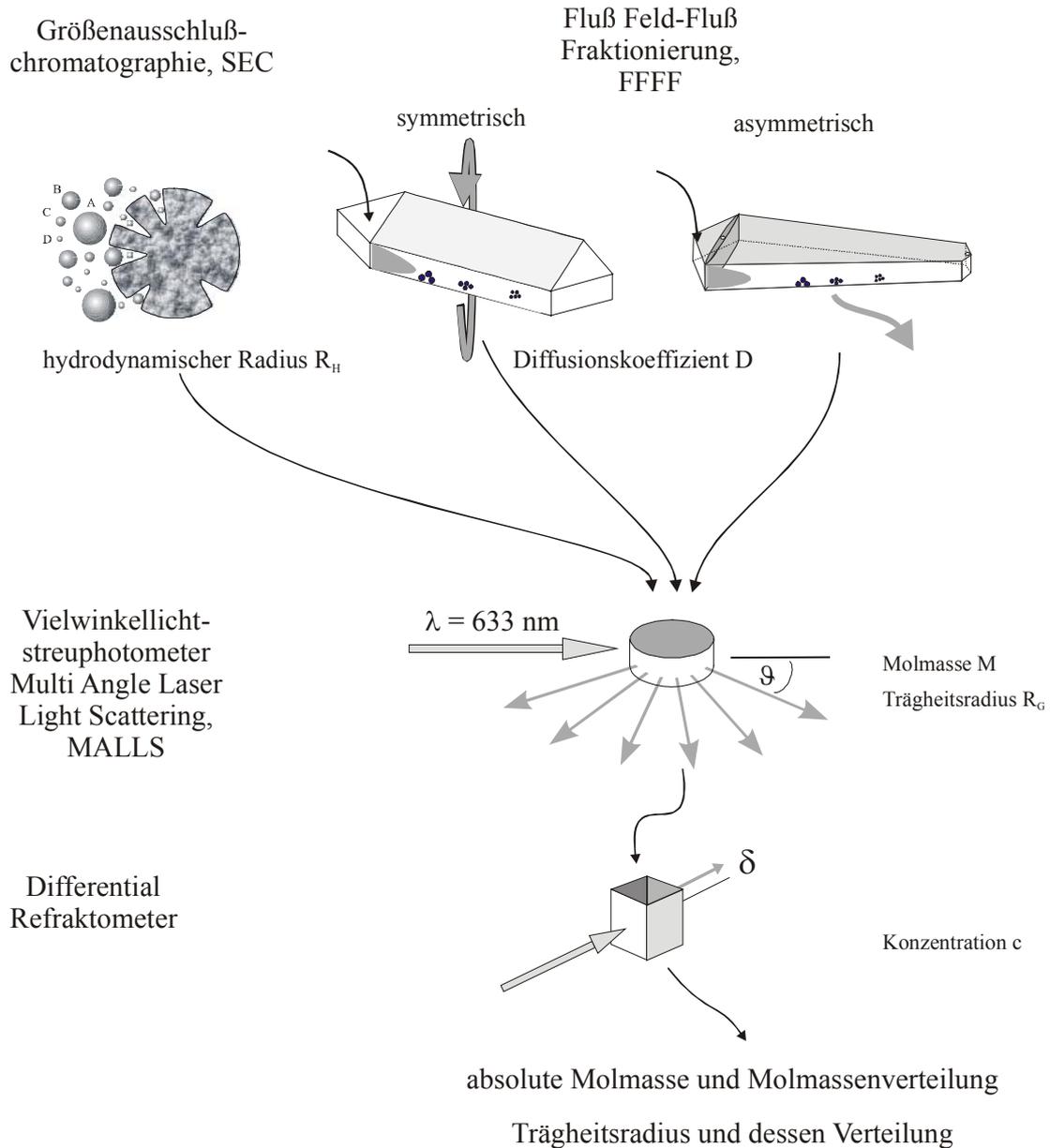
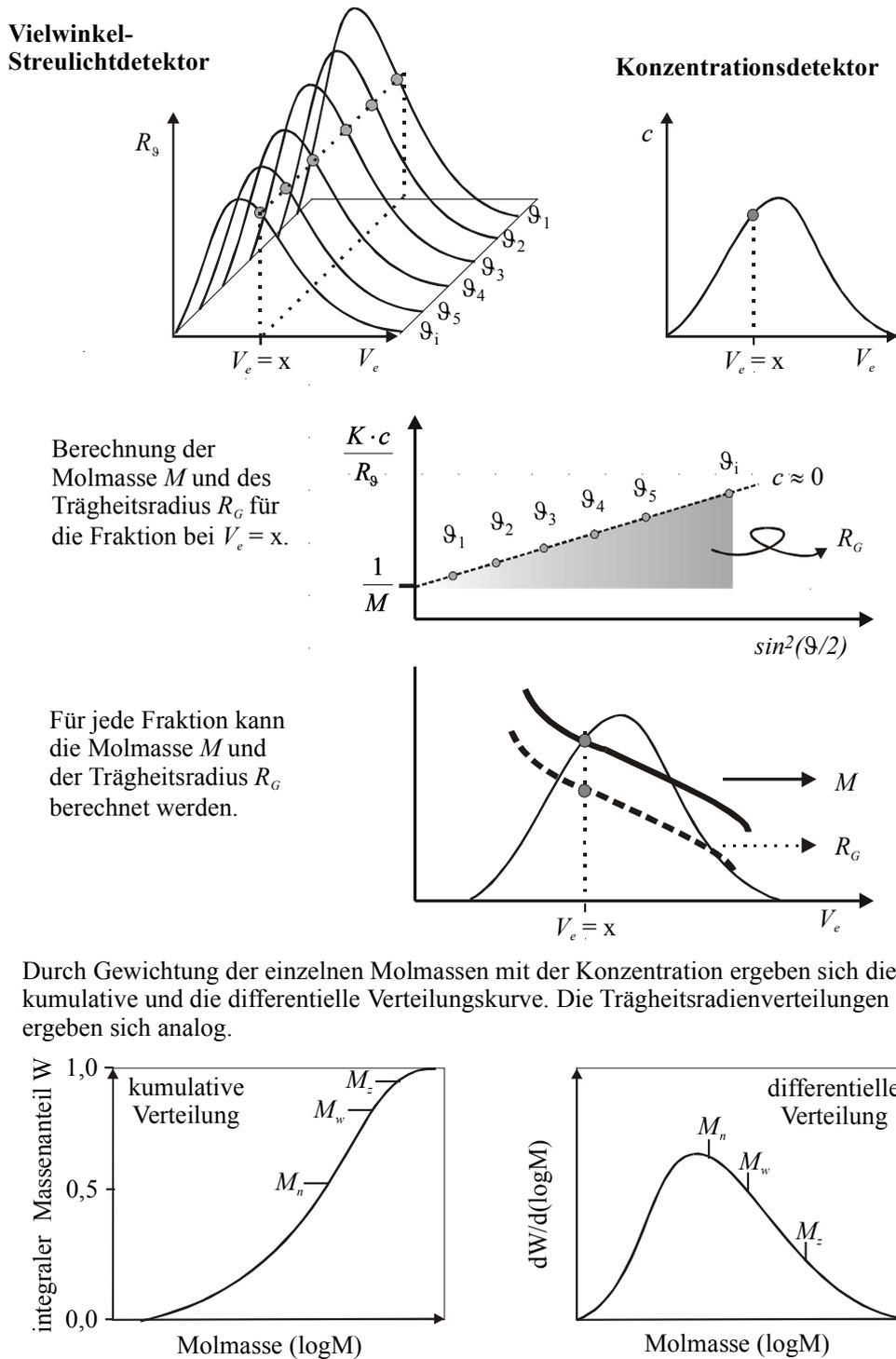


Abbildung 4.8-1 Darstellung der Kopplung der Fraktioniermethoden SEC, symmetrische oder asymmetrische Fluß Feld-Fluß Fraktionierung mit einem Vielwinkellichtstreuophotometer und einem Konzentrationsdetektor zur Ermittlung der absoluten Molmasse und Trägheitsradius sowie deren Verteilungen.

<sup>107</sup> Bird, R. B., Armstrong, R. C., Hassager, O., „Dynamics of polymeric liquids”, John Wiley New York, 1977, 169.

<sup>108</sup> Thielking, H., Kulicke, W.-M., „Determination of the Structural Parameters of Aqueous Polymer Solutions in the Molecular, Partially Aggregated, and Particulate States by Means of FFF / MALLS”, J. Microcolumn Sep. 10 (1), 1998, 51.

In **Abbildung 4.8-2** ist schematisch dargestellt, wie nach der Fraktionierung die Molmassen- und Trägheitsradienverteilungen aus den Streulichtintensitäten unter verschiedenen Winkeln und aus dem Konzentrationssignal berechnet werden können.



*Abbildung 4.8-2 Schematische Darstellung der Berechnung der Molmassen- (und Trägheitsradienverteilung) aus den Daten des Streulicht- und des Konzentrationsdetektors nach vorheriger Fraktionierung.*

## 4.9 Ultraschalldegradation

In vielen Fällen ist eine Verringerung der Molmasse von Polymeren sowie eine Verringerung der Polydispersität erforderlich. Die Ultraschalldegradation stellt hierzu eine geeignete Methode dar.

Beim Ultraschallabbau<sup>109,110</sup> werden Schallwellen hoher Intensität in eine Polymerlösung eingetragen. Der Abbau des Polymeren erfolgt nicht durch einen direkten Angriff der Schallwellen auf das Molekül, sondern es entstehen Gasblasen in der Polymerlösung, welche mit hoher Energie implodieren (Kavitation). Durch die Kavitation der Gasblasen entstehen in der Flüssigkeit kurzzeitig extreme lokale Drücke und Temperaturen. Durch die hiermit induzierten Druckschwankungen entstehen Dehnströmfelder, in denen es zur Degradation von Polymerfäden kommen kann, wobei der Bruch zur Ausbildung von Polymerradikalen führt.

Der Kettenbruch im Dehnströmfeld kann nur im Kräftegleichgewicht erfolgen (stationärer Zustand), bei einem Kräfteüberschuß in eine Richtung wird das ganze System in die entsprechende Richtung bewegt. Der Kettenbruch erfolgt dabei nicht statistisch, sondern im Molekülschwerpunkt<sup>111,112</sup>. Hierbei werden große Moleküle schneller degradiert als kleine, da diese einen höheren Fließwiderstand bieten und sie somit die Kräfte des Dehnströmfeldes besser akkumulieren können. Der Verlauf der Reaktionskinetik erfolgt nach erster Ordnung, was auf einen unabhängigen Abbau der Polymermoleküle hinweist (**Abbildung 4.9-1**).

Während des Ultraschallabbaus erfolgt die Abnahme der Molmasse exponentiell mit der Zeit und es tritt ein für jedes Polymer charakteristisches Grenzwert auf. Somit werden unter Ultraschalleinfluß keine Mono- und Oligomere erzeugt, da die angreifenden Kräfte ab einer gewissen Kettenlänge für einen Kettenbruch nicht mehr ausreichend sind.

---

<sup>109</sup> Schnabel, W., „*Polymerdegradation*“, Carl Hanser Verlag München, **1981**.

<sup>110</sup> Basedow, A. M., Ebert, K. H., „*Ultrasonic Degradation of Polymers in Solution*“, *Adv. Polym. Sci.* **22**, **1977**, 83.

<sup>111</sup> Kulicke, W.-M., Otto, M., Baar, A., „*Improved NMR characterization of high-molecular-weight polymers and polyelectrolytes through the use of preliminary ultrasonic degradation*“ *Makromol. Chem.* **194**, **1993**, 751.

<sup>112</sup> Malhotra, S. L., „*Ultrasonic degradation of hydroxypropylcellulose solutions in water, ethanol, and tetrahydrofuran*“, *Macromol. Sci. Chem. A* **17** (4), **1982**, 601.

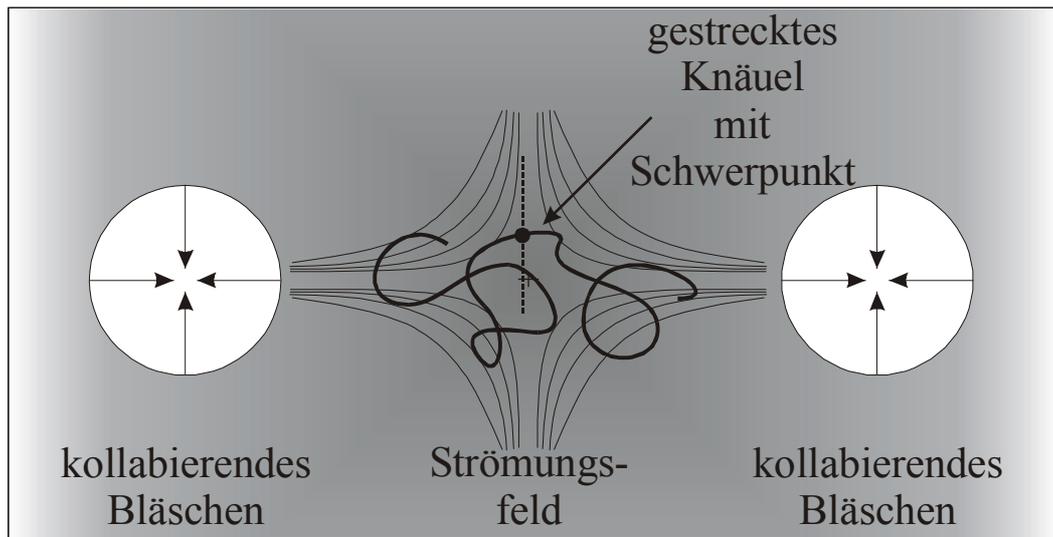


Abbildung 4.9-1 Schematische Darstellung des Ultraschallabbaus durch Kavitation von Gasblasen unter Ausbildung eines Dehnströmungsfeldes.

Bei der Ultraschalldegradation handelt es sich um einen definierten Prozeß, da Produkte erhalten werden, die sich nur in ihrer Molmasse, nicht aber in ihrem chemischen Aufbau unterscheiden. Die Arbeitsgruppe um W.-M. Kulicke bewies, daß keine Seitengruppen abgespalten werden und auch übermolekulare Strukturen wie z.B. die zusammengelagerten Helices bei Xanthanen unter Ultraschalleinfluß erhalten bleiben.

## 5 Ergebnisse und Diskussion

Die Eigenschaften von Polymeren in Lösung werden maßgeblich von der Molmasse, deren Verteilung sowie der Lösungsstruktur bestimmt. Für die verschiedenen Anwendungsgebiete gibt es oftmals optimale Molmassenbereiche. So liegt z.B. beim Einsatz von Hydroxyethylstärke als Blutplasmaersatzmittel die Molmasse je nach klinischer Anwendung zwischen 40.000 und 450.000 g/mol.

Zur Bestimmung der absoluten Molmasse und deren Verteilung hat sich die Kombination einer Fraktioniermethode mit der Vielwinkellichtstreuung und einem Konzentrationsdetektor bewährt. Standardmäßig wird für viele Fraktionierungen die Größenausschlußchromatographie eingesetzt. Hierbei können neben dem Größenausschluß jedoch auch andere Wechselwirkungen zwischen Probe und Säulenfüllmaterial auftreten. In diesen Fällen sind andere Fraktioniermethoden anzuwenden. Hier bietet sich u.a. die Fluß Feld-Fluß Fraktionierung an, die in zwei unterschiedlichen Kanalgeometrien ausgeführt werden kann.

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Polysaccharide insbesondere hinsichtlich ihrer Molmasse und deren Verteilung untersucht. Dabei war es erforderlich für jedes Polymer die geeignete Fraktionierungsmethode zu finden. Neben den Messungen an Glucanen und Guarkernmehl lag der Schwerpunkt der Untersuchungen auf dem Gebiet von Stärke und Stärkederivaten, welche u.a. als Blutplasmaersatzmittel geeignet sind. Neben der im klinischen Einsatz seit langem verwendeten Hydroxyethylstärke kommt Acetylstärke als alternativer Stoff in Betracht, da ihre physiologische Wirksamkeit mit der der Hydroxyethylstärke übereinstimmt, die Nebenwirkungen der Hydroxyethylstärke jedoch ausgeschlossen werden sollen.

Neben der Bestimmung der Molmasse sowie deren Verteilung sollte aus den erhaltenen Daten, sofern die Moleküle für eine Bestimmung des Radius groß genug sind, Struktur-Eigenschafts-Beziehungen erstellt werden, welche allgemeingültige Aussagen über das Verhalten der jeweiligen Substanz in Lösung gestatten.

## 5.1 Untersuchungen an Glucanen

Im Kapitel 2.1 sind Glucane hinsichtlich ihrer chemischen Struktur und ihrer Eigenschaften beschrieben worden.

Aufgrund immunstimulierender Wirkungen<sup>1</sup>, die man den Glucanen zuschreibt, ist in den letzten Jahren das Interesse an dieser Substanzgruppe gestiegen. Die Gelbildung von Gerstenglucanen führen jedoch beispielsweise im Brauprozeß zu unerwünschten Trübungen und gelartigen Niederschlägen<sup>2,3</sup>, mit denen eine Reihe von Problemen verbunden sind. Neben dem Gesamtgehalt<sup>4</sup> an  $\beta$ -Glucanen werden diese Probleme auch durch die vorliegende Molmasse<sup>5,6</sup> beeinflusst.

Bei den bisher mittels Lichtstreuung an  $\beta$ -Glucanen durchgeführten Untersuchungen zur Bestimmung der absoluten Molmasse und der Konformation der Makromoleküle in Lösung<sup>7,8,9,10</sup> treten erhebliche Differenzen auf, die sich zum Teil durch die unterschiedliche Herkunft der Glucane aber auch durch eine unterschiedliche Probenpräparation erklären lassen. Aufgrund der Neigung zur Gelbildung ist es zur Bestimmung der molekularen Parameter wichtig, daß die Proben molekular dispers und nicht-assoziiert vorliegen.

Ziel der Arbeit von C. Clasen<sup>11</sup>, der u.a. Glucane mittels rheo-optischer Methoden untersuchte, waren Aussagen über den Solzustand wäßriger Glucan-Lösungen. Wie in der

<sup>1</sup> Bohn, J.A., Bemiller, J. N., „(1,3)- $\beta$ -D-glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships“, Carbohydr. Polym. 28, **1995**, 3.

<sup>2</sup> Narziß, L., „ $\beta$ -Glucans and beer filterability“, Brauwelt 37, **1992**, 1696.

<sup>3</sup> Caldwell, C.W., „Field-Flow Fractionation“, Analytical Chemistry 60, **1988**, 959.

<sup>4</sup> Wagner, N., He, G., Krüger, E., „Significance of  $\beta$ -glucan gels for beer filterability“, Brauwelt 12, **1991**, 426.

<sup>5</sup> Narziß, L., Reicheneder, E., Edney, M. J., „Studying beer filtration with an accurate  $\beta$ -glucan assay“, Monatsschr. Brauw. 42 (7), **1989**, 277.

<sup>6</sup> Wagner, N., Esser, K. D., Krüger, E., „Analysis and significance of high-molecular-weight  $\beta$ -glucan in beer“, Monatsschr. Brauw. 41 (10), **1988**, 384.

<sup>7</sup> Grimm, A., Krüger, E., Burchard, W., „Solution properties of  $\beta$ -(1,3)(1,4)-glucan isolates from beer“, Carbohydr. Polym. 27, **1995**, 205.

<sup>8</sup> Vaarum, K. M., Smidsroed, O., Brant, D. A., „Light scattering reveals micelle-like aggregation in the (1,3),(1,4)- $\beta$ -d-glucans from oat aleurone“, Food Hydrocoll. 5 (6), **1992**, 497.

<sup>9</sup> Gómez, C., Navarro, A., Manzanares, P., Horta A., Carbonell, J. V., „Physical and structural properties of barley (1,3),(1,4)- $\beta$ -D-glucan. Part I. Determination of molecular weight and macromolecular radius by light scattering“, Carbohydr. Poly. 32, **1997**, 7.

<sup>10</sup> Lange, S., „Bestimmung der Molmasse, der Molmassenverteilung und der Konformation von Polysacchariden und deren Derivaten aus nachwachsenden Rohstoffen“, Dissertation Universität Hamburg, **1999**.

<sup>11</sup> Clasen, C., „Neue Charakterisierungsmöglichkeiten von supramolekularen Strukturen in Biopolymerlösungen mit rheo-optischen Methoden“, Dissertation Universität Hamburg, **2001**.

Arbeit ausgeführt, zeigen lokale Überstrukturen nur schwache Auswirkungen auf das Fließverhalten, bewirken aber häufig zeitabhängige Veränderungen der Lösungsstruktur, weisen auf Änderungen der intermolekularen Wechselwirkungen hin und bilden Keime für Änderungen der Phasenstruktur wie z.B. Ausflockung und Gelierung. Dieses Verhalten lokaler Überstrukturen kann mit Hilfe rheo-optischer Methoden erfaßt werden. Die Untersuchungen zeigten u.a., daß bereits im Solzustand lokale, aggregierte Überstrukturen vorhanden sind, die als Gelkeime für später raumübergreifende Gelierung wirken, aber keine Auswirkungen auf das makroskopische Fließverhalten zeigen. Die spontane Gelierung ist mit dem Lösungszustand der Glucane verbunden und tritt nur oberhalb der kritischen Konzentration  $c^*$  auf.

Die Molmasse steht im direkten Zusammenhang mit der Viskosität. Zur Aufklärung des Gelverhaltens ist die Kenntnis der Molmasse und insbesondere deren Verteilung nötig, damit vergleichende Aussagen über verschiedene Proben gemacht werden können.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei bzw. vier verschiedenen Probenchargen von (1,3)(1,4)- $\beta$ -D-Gerstenglucane mit laut Hersteller unterschiedlicher Viskosität sowie ein carboxymethyliertes 1,3- $\beta$ -D-Glucan hinsichtlich ihrer Molmasse und deren Verteilung untersucht. Bei den Gerstenglucanen handelt es sich um kommerziell bei der Firma Megazyme (Co.Wicklow, Irland) erworbene Proben, die vom Hersteller hinsichtlich ihrer Viskosität qualifiziert werden. Das carboxymethylierte 1,3- $\beta$ -D-Glucan stammt von der Firma ABAC (Wallisellen, Schweiz) und wurde für die molekulare Charakterisierung hinsichtlich der Molmasse und deren Verteilung gewählt, da es laut Herstellerangaben aufgrund schonender Herstellungsverfahren weitgehend nativ und partikulär vorliegen sowie Kaltwasser löslich sein soll. Bei der Herstellung kann es mit einer Reinheit von mindestens 98 % gewonnen werden. In **Tabelle 5.1-1** ist der Probensatz der untersuchten Glucane mit der in der Arbeit verwendeten Probenbezeichnung aufgeführt.

### **Trockengehaltsbestimmung**

Für die Gerstenglucane der Firma Megazyme wurde ein durchschnittlicher Trockengehalt von 90,6 % und für das carboxymethylierte 1,3- $\beta$ -D-Glucan der Firma ABAC wurde ein Trockengehalt von 85,6 % ermittelt. Diese Trockengehalte gehen in alle weiteren Bestimmungen mit ein.

*Tabelle 5.1-1 Überblick über die untersuchten Glucane mit der verwendeten Probenbezeichnung, Herkunft, Quantifizierung und der Viskosität.*

Probenbezeichnung	Proben-Herkunft	Proben-Quantifizierung	Viskosität <sup>1)</sup> (cSt)
GG 300 „00“	Megazyme	Gerstenglucan High Viscosity	~ 100
GG 300 „II“	Megazyme	Gerstenglucan High Viscosity	~ 100
GG 165 „0“	Megazyme	Gerstenglucan Medium Viscosity	20 – 30
GG 165 „I“	Megazyme	Gerstenglucan Medium Viscosity	~ 25
GG 165 „II“	Megazyme	Gerstenglucan Medium Viscosity	~ 25
GG 165 „III“	Megazyme	Gerstenglucan Medium Viscosity	~ 25
SF 215	ABAC	carboxymethyliertes 1,3-β-D-Glucan	-

<sup>1)</sup> Herstellerangabe

### **Bestimmung des Brechungsindexinkrementes**

Um Fehler in der Bestimmung der molekularen Parameter möglichst klein zu halten, wurden von den Proben die Brechungsindexinkremente mittels eines Interferometers bestimmt, obwohl von Gerstenglucanen bereits Werte<sup>10</sup> vorlagen. Da aber das Brechungsindexinkrement die molekularen Parameter, welche aus Lichtstremessungen gewonnen werden, stark beeinflusst, sollte dieser Fehler gering gehalten werden und eine Vergleichbarkeit der einzelnen Proben garantiert werden.

Die Mittelwerte aller Bestimmungen der (1,3)(1,4)-β-D-Glucane ergab hierbei einen Wert von  $(dn/dc) = 0,154$  ml/g mit einer Abweichung von maximal 0,6 %. Die einzelnen Proben zeigten dabei keine signifikanten Abweichungen, so daß man davon ausgehen kann, daß die Gerstenglucane im vorliegenden Molmassenbereich ein konstantes Verhalten hinsichtlich des Brechungsindexinkrementes zeigen.

Das carboxymethylierte 1,3-β-D-Glucan ergab mit einem Wert von  $(dn/dc) = 0,148$  ml/g einen um 3,8 % abweichenden Wert von den Gerstenglucanen.

### **Messung mittels der gekoppelten Anlage SEC/MALLS/RI**

Zur Bestimmung der Molmasse und deren Verteilung wurden die Gerstenglucane der Firma Megazyme in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei

90°C im Trockenschrank unter gelegentlichem Schütteln innerhalb von 72 Stunden gelöst. Diese Proben wurden ohne weitere Vorbehandlung eingesetzt.

Das carboxymethylierte 1,3- $\beta$ -D-Glucan SF 215 sollte laut Herstellerangaben kaltwasserlöslich sein. Da nach 72 Stunden Lösen in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid noch immer Rückstände zu beobachten waren, wurde auch diese Probe in der Wärme bei 90°C gelöst. Dies zeigte jedoch keine Verbesserung der Lösungsqualität, die Probe mußte daher vor dem Vermessen zentrifugiert werden. Um eine Beeinflussung etwa durch thermische Degradation auszuschließen, wurde diese Probe aus der kalt hergestellten Lösung bei Raumtemperatur vermessen.

Von Gerstenglucanen ist bekannt, daß sie zu Assoziatbildung neigen, welche thermoreversibel ist. Daher wurden die Proben in der Wärme gelöst und über Säulen fraktioniert, welche auf 77,5°C temperiert waren. Die Gerstenglucane mit geringerer nomineller Viskosität wurden zum Vergleich zusätzlich noch über Säulen bei Raumtemperatur fraktioniert und vermessen.

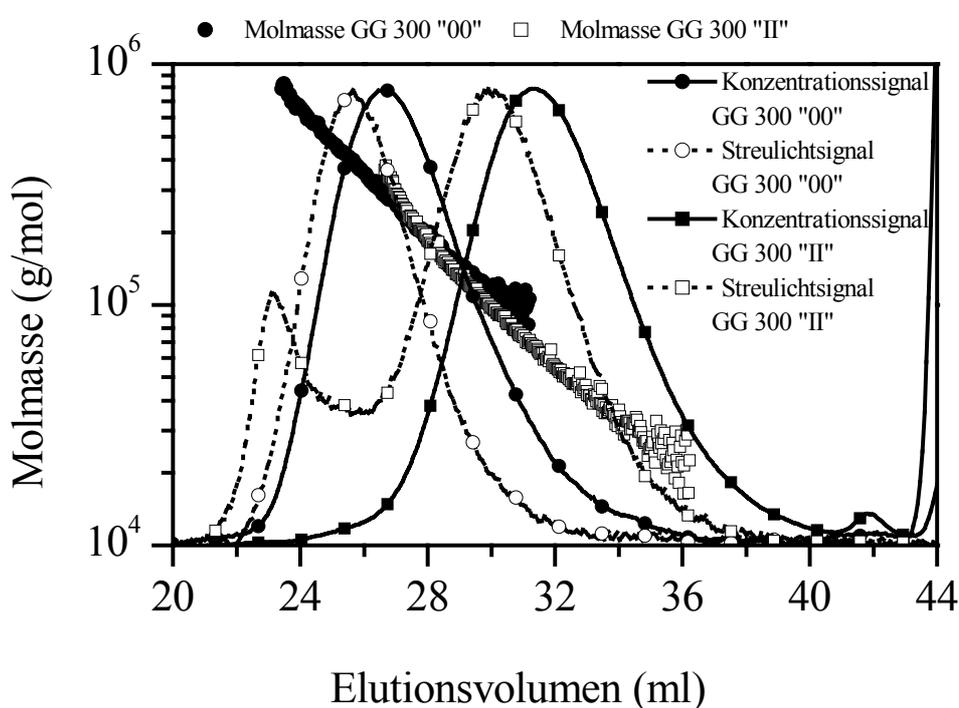
Das carboxymethylierte 1,3- $\beta$ -D-Glucan SF 215 hingegen sollte molekular dispers vorliegen, weshalb es bei Raumtemperatur vermessen wurde.

Die SEC/MALLS/RI-Messungen der beiden Proben GG 300 des Gerstenglucans geben deutlich unterschiedliche Elutionsprofile. So ist das Gerstenglucan GG 300 „II“ im Streulichtsignal bimodal wo hingegen das Gerstenglucan GG 300 „00“ einen monomodalen Elutionsverlauf zeigt. Die Konzentration im ersten Peak des Gerstenglucans GG 300 „II“ ist so gering, daß dieser Peak nicht mit vergleichbaren Werten innerhalb der Fehlergrenzen ausgewertet werden kann. Dieser Peak macht in der Wiederfindungsrate ca. 1 % aus. In **Tabelle 5.1-2** sind zunächst die Ergebnisse der Probe GG 300 „00“ aufgeführt. Danach folgen die Ergebnisse der Probe GG 300 „II“ vorab über den gesamten Peakbereich und anschließend über den Hauptpeak des Streulichtsignals. Alle Messungen der jeweiligen Probe zeigen gute Übereinstimmung. **Abbildung 5.1-1** stellt die Molmasse gegen das Elutionsvolumen der beiden Proben dar. Für jede Probe ist das Diagramm mit dem Konzentrations- und Streulichtsignal hinterlegt. Anhand dieser Darstellung kann man deutlich die unterschiedlichen Molmassen der beiden Proben erkennen. Für die Probe GG 300 „II“ ist ebenfalls zu sehen, daß für den ersten Peak des Streulichtsignals kein

entsprechender im Konzentrationssignal zu erkennen ist. Die Konzentration dieses Beitrags zu der Molmassenverteilung ist sehr gering.

*Tabelle 5.1-2 Ergebnisse der SEC-Messungen der Gerstenglucane GG 300 bei 77,5°C Säulentemperatur. Angegeben sind die zahlenmittlere Molmasse  $M_n$ , die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  sowie die z-statistische Molmasse  $M_z$ . Des weiteren sind die Polydispersität  $M_w/M_n$ , der Trägheitsradius  $R_{G_z}$ , der Exponent  $\nu$  der  $R_G$ -M-Beziehung und die Wiederfindungsrate aufgeführt.*

Probe	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	$R_{G_z}$ (nm)	$\nu$	WR (%)
GG 300 „00“	215.500	303.600	403.300	1,4	44	0,46	92,2
GG 300 „II“, gesamt	39.000	63.900	100.300	1,6	22	0,46	98,4
GG 300 „II“, Hauptpeak	39.400	61.400	88.100	1,6	20	0,51	97,5

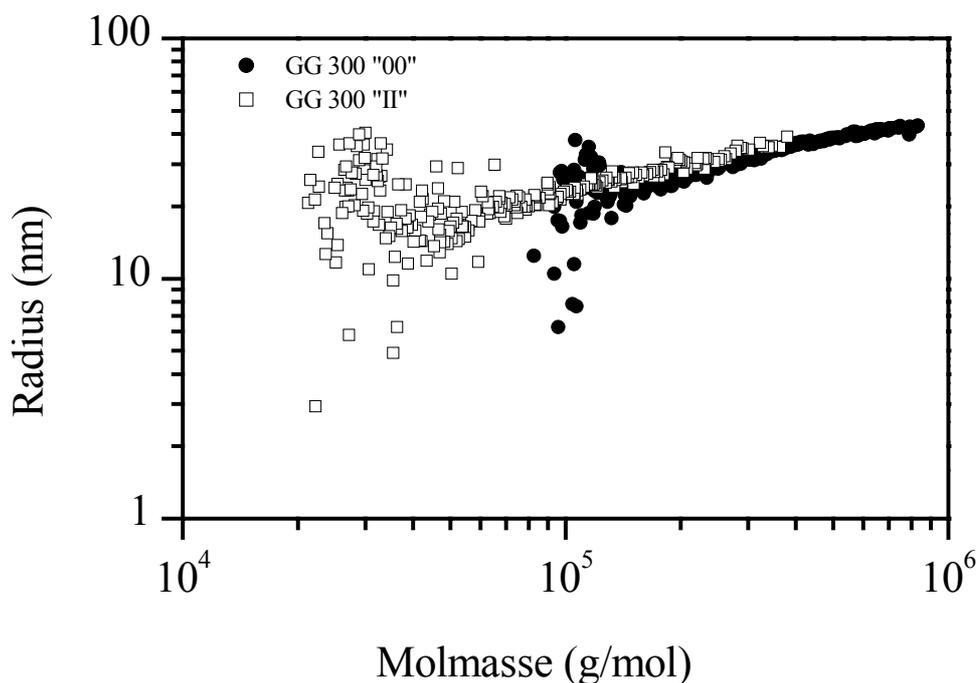


*Abbildung 5.1-1 Molmasse gegen Elutionsvolumen der Gerstenglucane GG 300 „00“ und GG 300 „II“. Hinterlegt ist das Diagramm mit den jeweiligen Konzentrations- (geschlossene Symbole bei durchgezogener Linie) und Streulichtsignalen (offene Symbole mit gepunkteter Linie).*

Die sehr guten Wiederfindungsraten schließen Wechselwirkungen mit dem Säulenmaterial ebenso wie das Vorhandensein zu großer Aggregat- oder Assoziatanteile, die größtenteils geschlossen werden, aus.

Auffallend ist, daß obwohl die Proben die gleiche Viskosität haben sollen, die Molmassen und Molmassenverteilungen sehr stark voneinander abweichen. Die Molmasse des ersten Peaks der Probe GG 300 „II“ liegt im Bereich von über 1.000.000 g/mol. Somit kann man davon ausgehen, daß die Viskosität durch Mischen von Proben unterschiedlicher Molmassen und Molmassenverteilungen eingestellt wird.

**Abbildung 5.1-2** zeigt, daß der Exponent  $\nu$  der R<sub>G</sub>-M-Beziehung für die beiden Proben sehr ähnlich ist. Die Messungen ergeben für die monomodale Probe GG 300 „00“ einen  $\nu$ -Wert von 0,46, was für lineare Moleküle auf ein gegenüber dem  $\theta$ -Zustand leicht zusammengezogenes Knäuel hindeutet. Die niedermolekulare, bimodale Probe weist für den Hauptpeak mit einem  $\nu$ -Wert von 0,51 auf ein Knäuel nahe dem  $\theta$ -Zustand hin.



*Abbildung 5.1-2 Doppellogarithmische Auftragung der Trägheitsradien gegen die Molmasse der Proben GG 300 „00“ und GG 300 „II“.*

Wichtig ist für diese Proben, daß sie sich nicht bei weiterführenden Messungen - wie beispielsweise rheo-optischen Untersuchungen - als identische Proben vergleichen lassen können.

Von den niederviskosen Gerstenglucanen der Bezeichnung GG 165 standen vier Proben zur Verfügung, wobei drei identisch sein sollen. Auch an diesen Proben wurde in der Arbeit von C. Clasen<sup>11</sup> rheo-optische Untersuchungen durchgeführt, so daß eine Aussage über die Molmasse und deren Verteilung erforderlich war.

Um eventuelle Unterschiede bei der Fraktionierung bei verschiedenen Temperaturen festzustellen, wurden die Proben jeweils bei 77,5°C und bei 25°C Säulentemperatur fraktioniert.

Im Falle der Probe GG 165 „0“ handelt es sich um eine Substanz, die im Streulichtsignal eine bimodale Verteilung aufzeigt. Hier ist die Konzentration unter dem hochmolekularen Peak zu gering, als das dieser getrennt ausgewertet werden könnte. Auch liegt keine Basislinientrennung vor. Deshalb wurde diese Probe einmal über den gesamten Peakbereich und einmal im Bereich des Hauptpeaks ausgewertet. Bei den Proben GG 165 „I“ bis „III“ handelt es sich um Proben mit gleicher Molmasse und Molmassenverteilung. Im hochmolekularem Bereich dieser Probe ist im Streulichtsignal ein Peak zu erkennen. In **Tabelle 5.1-3** sind die Ergebnisse der SEC-Messungen bei 77,5°C aufgeführt, wobei jeweils über den gesamten Peakbereich und über den Hauptpeak ausgewertet wurde. Der Peak der hochmolekularen Fraktion des Streulichtsignals läßt sich aufgrund zu geringer Konzentration nicht reproduzierbar einzeln auswerten. Da es sich bei den Proben GG 165 „I“ bis „III“ offensichtlich um dieselbe Substanz handelt, wurden anschließend die Mittelwerte sämtlicher Messungen der Proben gebildet. Trotz höherer Molmasse weisen die Proben GG 165 „I“ bis „III“ eine kleinere Polydispersität  $M_w/M_n$  als die Probe GG 165 „0“ auf. Die Exponenten  $\nu$  der R<sub>G</sub>-M-Beziehung sind mit Werten von  $\nu = 0,16$  bzw.  $0,12$  über den gesamten Peakbereich alle auffallend klein. Derart kleine Exponenten sind i.a. Hinweise auf Aggregate bzw. Assoziate. Für die Probe GG 165 „0“ ist der Exponent  $\nu$  mit  $0,26$  immer noch sehr klein, die anderen Proben zeigen mit  $0,39$  aber einen physikalisch sinnvollen Wert für gegenüber dem  $\theta$ -Zustand zusammengeschrumpfte Knäule. In **Abbildung 5.1-3** ist die Molmasse gegen das Elutionsvolumen mit den Konzentrations- und Streulichtsignalen dargestellt. Die unterschiedlichen Molmassen und die Polydispersitäten sind anhand der kumulativen Molmassenverteilung (**Abbildung 5.1-**

4) sehr gut zu erkennen. In **Abbildung 5.1-5** folgt die doppellogarithmische Auftragung des Trägheitsradius gegen die Molmasse. Hier ist das unterschiedliche Verhalten der Proben hinsichtlich des Exponenten der  $R_G$ -M-Beziehung zu erkennen.

*Tabelle 5.1-3 Ergebnisse der SEC-Messungen der Gerstenglucane GG 165 bei 77,5°C Säulentemperatur. Angegeben sind die zahlenmittlere Molmasse  $M_n$ , die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$ , sowie die z-statistische Molmasse  $M_z$ . Des weiteren sind die Polydispersität  $M_w/M_n$ , der Trägheitsradius  $R_{G_z}$ , der Exponent  $\nu$  der  $R_G$ -M-Beziehung und die Wiederfindungsrate aufgeführt.*

Probe	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	$R_{G_z}$ (nm)	$\nu$	WR (%)
GG 165 „0“, gesamt	76.300	160.900	683.600	2,1	33	0,12	94,1
GG 165 „0“, Hauptpeak	61.900	133.000	234.600	2,2	30	0,26	93,1
GG 165 „I“, gesamt	160.900	239.700	505.200	1,5	40	0,17	98,4
GG 165 „I“, Hauptpeak	150.400	212.400	287.600	1,4	37	0,40	97,5
GG 165 „II“, gesamt	159.400	239.800	524.200	1,5	39	0,16	98,5
GG 165 „II“, Hauptpeak	149.100	211.800	289.100	1,4	36	0,39	99,5
GG 165 „III“, gesamt	164.500	241.700	497.500	1,5	39	0,16	96,5
GG 165 „III“, Hauptpeak	152.200	214.100	290.000	1,4	37	0,39	95,7
GG 165 „I“ bis „III“, gesamt	161.600	240.400	509.000	1,5	39	0,16	97,4
GG 165 „I“ bis „III“, Hauptpeak	150.500	212.800	288.900	1,4	37	0,39	98,2

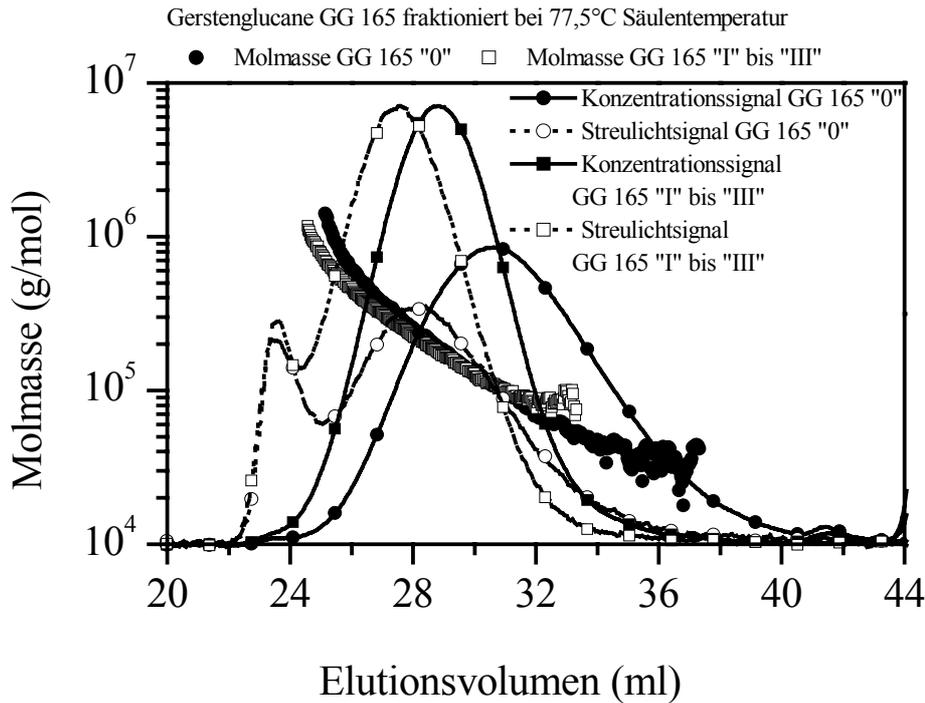


Abbildung 5.1-3 Molmasse gegen Elutionsvolumen der Gerstenglucane GG 165 „0“ und GG 165 „I“ bis „III“ bestimmt über den Hauptpeak bei 77,5°C Säulentemperatur. Hinterlegt ist das Diagramm mit den jeweiligen Konzentrations- (geschlossene Symbole bei durchgezogener Linie) und Streulichtsignalen (offene Symbole mit gepunkteter Linie).

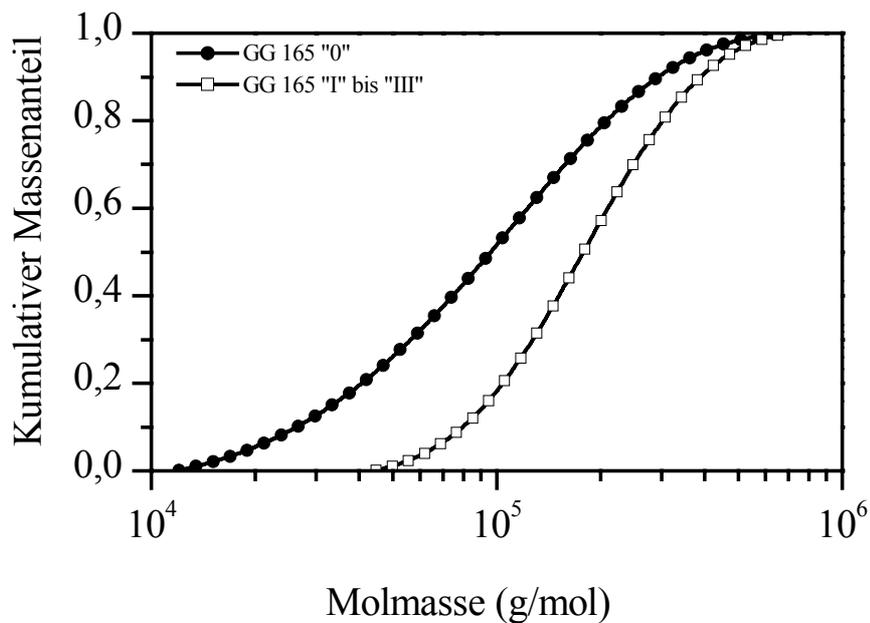


Abbildung 5.1-4 Kumulative Molmassenverteilung der Gerstenglucane GG 165 „0“ und GG 165 „I“ bis „III“ bestimmt über den Hauptpeak bei 77,5°C Säulentemperatur.

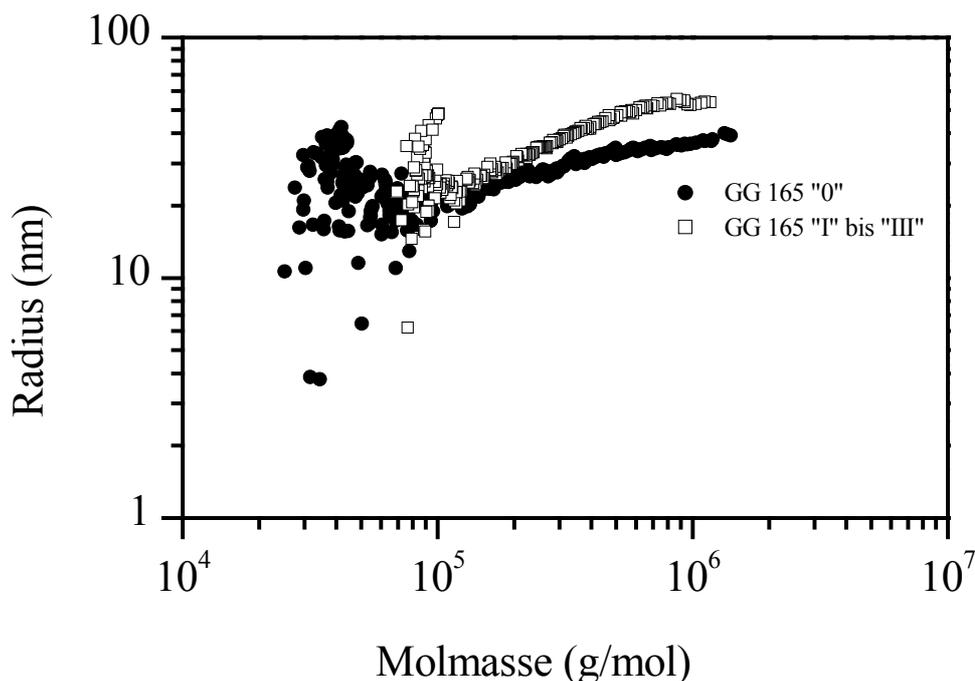


Abbildung 5.1-5 Doppellogarithmische Auftragung der Trägheitsradien gegen die Molmasse der Proben GG 165 „0“ und GG 165 „I“ bis „III“ bestimmt über den Hauptpeak bei 77,5°C Säulentemperatur.

Die Messungen der Proben über auf 25°C temperierte Säulen zeigen für die Proben ein leicht verändertes Verhalten: Die Bimodalität der Probe GG 165 „0“ ist deutlich zu erkennen, die Trennung zwischen den beiden Streulichtsignalen ist jedoch nicht so stark ausgeprägt, wie es bei den auf 77,5°C temperierten Säulen der Fall ist. Bei den Proben GG 165 „I“ bis „III“ ist die Bimodalität nur noch als eine leichte Schulter zur hochmolekularen Flanke zu erkennen. **Abbildung 5.1-6** zeigt den Elutionsverlauf der Molmasse. Konzentrations- und Streulichtsignal sind ebenfalls mit angegeben. Für die Proben GG 165 „0“ ist nur die Auswertung über den Hauptpeak dargestellt.

Der Verlauf der doppellogarithmischen Auftragung des Radius gegen die Molmasse (**Abbildung 5.1-7**) zeigt für beide Proben bei dieser Temperatur eine deutliche Krümmung. Das Ansteigen der Werte des Radius für kleine Molmassen ist eigentlich für verzweigte Moleküle typisch, was durch die chemische Struktur der Glucane ausgeschlossen werden kann. Vielmehr ist hier Aggregat- bzw. Assoziatbildung zu vermuten, die mit höherer Temperatur weniger stark ausgeprägt ist, somit also die Thermoreversibilität ausdrückt. In **Tabelle 5.1-4** sind die Ergebnisse hinsichtlich der Molmassen, der

Polydispersität, des Trägheitsradius, der Exponenten  $\nu$  und der Wiederfindungsrate dargestellt.

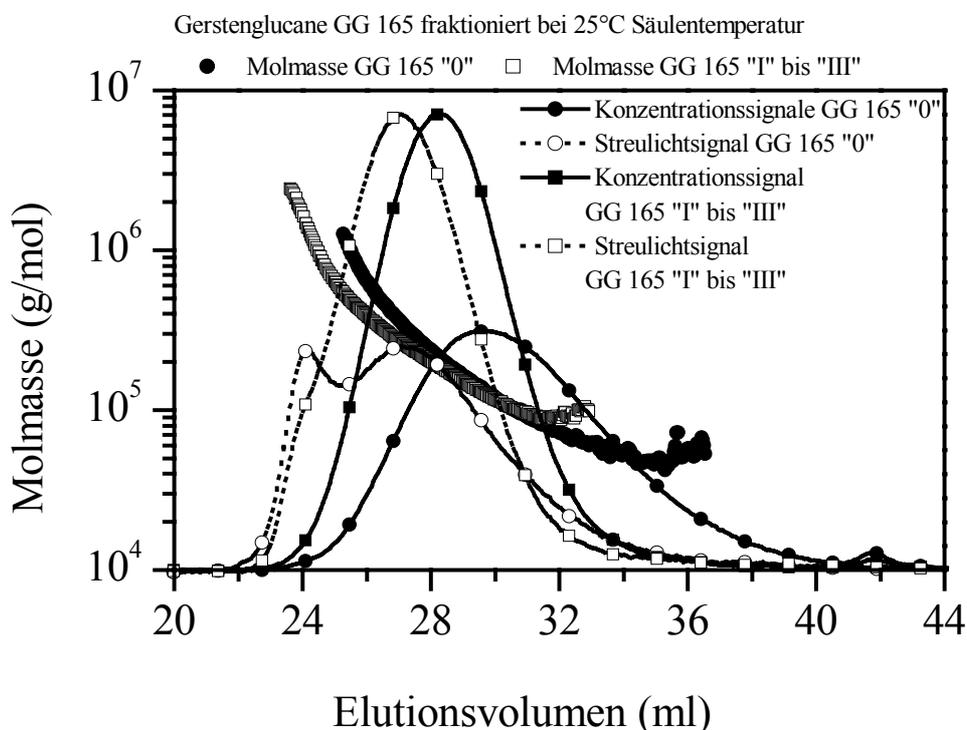


Abbildung 5.1-6 Molmasse gegen Elutionsvolumen der Gerstenglucane GG 165 „0“ (über den Hauptpeak) und GG 165 „I“ bis „III“ bei 25°C Säulentemperatur. Hinterlegt ist das Diagramm mit den jeweiligen Konzentrations- (geschlossene Symbole bei durchgezogener Linie) und Streulichtsignalen (offene Symbole mit gepunkteter Linie).

Für die Probe GG 165 „0“ führt der Vergleich der Messungen bei unterschiedlicher Säulentemperatur für die Probe bei 25°C zu höheren gewichtsmittleren Molmassen sowohl über den Gesamt- als auch über den Hauptpeak. Dies ließe sich über einen höheren Aggregat- bzw. Assoziatanteil erklären. Verglichen mit den Messungen bei 77,5°C Säulentemperatur gilt für die Proben GG 165 „I“ bis „III“, dass die gewichtsmittleren Molmassen  $M_w$  kleiner sind als  $M_w$  für den Gesamtpeak bei 77,5°C, aber größer als die über den Hauptpeak bei 77,5°C. Bezogen auf den Vergleich mit dem Hauptpeak bei 77,5°C ist dies ein logisches Ergebnis, da die großen Bestandteile bei Raumtemperatur nicht abgetrennt worden sind und in den Mittelwert mit einbezogen werden. Die Abweichung zu dem Gesamtpeak bei 77,5°C läßt sich eventuell durch eine Abtrennung hochmolekularer Bestandteile erklären, da auch die Wiederfindungsraten insgesamt etwas

schlechter sind. In **Abbildung 5.1-8** sind diese Zusammenhänge mit Hilfe der kumulativen Molmassenveteilung dargestellt.

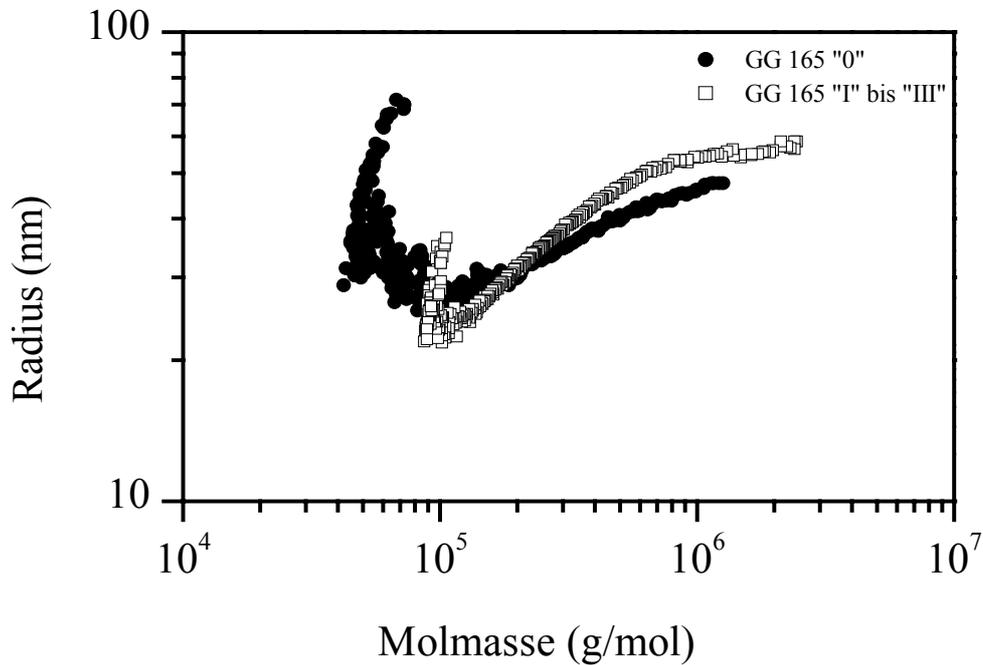


Abbildung 5.1-7 Doppellogarithmische Auftragung der Trägheitsradien gegen die Molmasse der Proben GG 165 „0“ (über den Hauptpeak) und GG 165 „I“ bis „III“ bei 25°C Säulentemperatur.

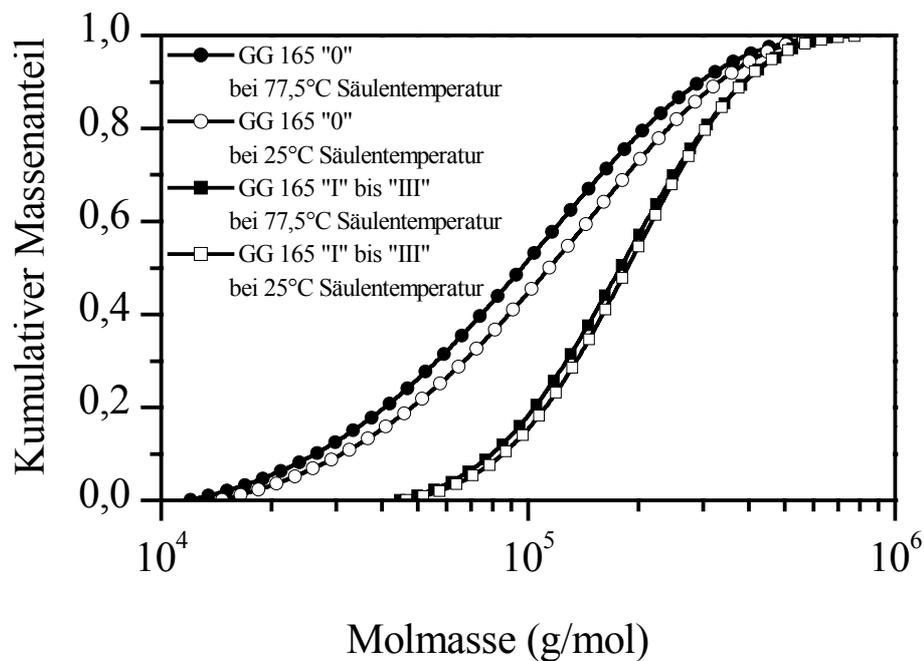


Abbildung 5.1-8 Kumulativer Molmassenanteil der Gerstenglucane GG 165 bei den verschiedenen Säulentemperaturen.

*Tabelle 5.1-4 Ergebnisse der SEC-Messungen der Gerstenglucane GG 165 bei 25°C Säulentemperatur. GG 165 „0“ wurde einmal über den gesamten Peakbereich und einmal nur über den Hauptpeak ausgewertet. Die Ergebnisse sind getrennt aufgeführt. Von den Proben GG 165 „I“ bis „III“ wurden die Mittelwerte sämtlicher Messungen gebildet.*

Probe	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	$R_{G_z}$ (nm)	$\nu$	WR (%)
GG 165 „0“, gesamt	101.500	199.600	821.700	2,0	41 <sup>‡</sup>	0,17 <sup>‡</sup>	90,0
GG 165 „0“, Hauptpeak	76.500	152.500	248.600	2,0	34 <sup>*</sup>	0,24 <sup>*</sup>	89,0
GG 165 „I“	168.800	229.100	347.300	1,4	38	0,32	97,2
GG 165 „II“	168.600	226.700	339.000	1,3	38	0,31	97,7
GG 165 „III“	170.900	230.000	355.100	1,4	38	0,28	95,2
GG 165 „I“ bis „III“	169.400	228.600	347.200	1,3	38	0,31	96,7

<sup>‡,\*</sup> Der Radius konnte nicht über den gesamten Peakbereich ausgewertet werden.

<sup>‡</sup> Lediglich 67 % des Peaks mit einer gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  von 267.600 g/mol und einer Polydispersität  $M_w/M_n$  von 1,9 ergeben die dargestellten Werte.

<sup>\*</sup> Lediglich 70 % des Peaks mit einer gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  von 189.900 g/mol und einer Polydispersität  $M_w/M_n$  von 1,5 ergeben die dargestellten Werte.

Die Werte des Exponenten  $\nu$  der  $R_G$ -M-Beziehung sind für die Probe GG 165 „I“ bis „III“ bei 25°C Säulentemperatur durchweg kleiner als bei höherer Temperatur. Diese spräche für einen höheren Aggregat- bzw. Assoziatanteil.

Im Falle der Probe carboxymethyliertes  $\beta$ -(1,3)-D-Glucan SF 215 ist der Verlauf des Streulichtsignals monomodal. Im Konzentrationssignal tritt kurz vor dem Salzpeak in der niedermolekularen Fraktion ein Signal auf, zu dem jedoch keine Streulichtintensität vorhanden ist (**Abbildung 5.1-9**).

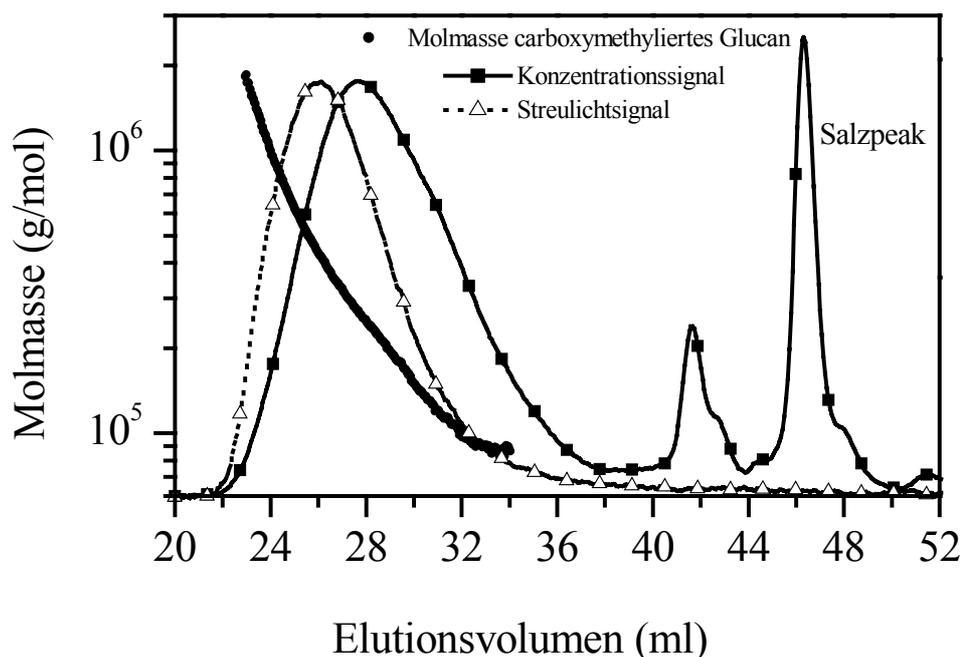


Abbildung 5.1-9 Molmasse gegen Elutionsvolumen des carboxymethylierten  $\beta$ -(1,3)-D-Glucans. Hinterlegt ist das Diagramm mit Konzentrations- (geschlossene Symbole mit durchgezogener Linie) und Streulichtsignal (offene Symbole mit gepunkteter Linie).

In **Tabelle 5.1-5** sind die Ergebnisse der Messungen angegeben.

Tabelle 5.1-5 Ergebnisse aus den SEC-Messungen der carboxymethylierten  $\beta$ -(1,3)-D-Glucans.

$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	$R_{G_z}$ (nm)	$\nu$	WR (%)
200.000	360.600	495.300	1,5	41	0,58	70,7

Die Wiederfindungsrate unter dem zweiten Peak im Konzentrationssignal ergibt 6,0 %. Damit ergibt sich die gesamte Wiederfindungsrate zu 76,7 %. Hierzu ist anzumerken, daß nicht die gesamte Probe vollständig löslich war und der unlösliche Feststoff vor den Messungen mittels Zentrifugation abgetrennt worden ist.

Verglichen mit den Gerstenglucanen weist diese Probe einen wesentlich höheren Wert  $\nu$  des Exponenten der  $R_G$ -M-Beziehung auf. Mit einem Wert von 0,58 läßt sich die Struktur auf ein gut durchspültes Knäuel zurückführen. Mit diesem Wert, im Zusammenhang mit dem Elutionsdiagramm der Molmasse, lassen sich für diese Probe auch Aggregate oder

Assoziat ausschließen, es sein denn, daß diese Bestandteile vollständig vom System zurückgehalten wurden.

Aus den ermittelten Daten läßt sich lediglich für die Probe GG 300 „II“, die über den Hauptpeak bestimmt wurden, und für das  $\beta$ -(1,3)-D-Glucan SF 215 physikalisch sinnvolle  $R_G$ -M-Beziehungen aufstellen und aus diesen mittels der Fox-Flory-Theorie die entsprechenden  $[\eta]$ -M-Beziehungen berechnen.

Für die Proben GG 300 „II“ mit einer gewichtsmittleren Molmasse von  $M_w = 61.400$  g/mol, einem Trägheitsradius  $R_{Gz}$  von 20 nm und einem Exponenten  $\nu$  von 0,51 ergibt sich die  $R_G$ -M-Beziehung  $R_G = 0,074 \cdot M^{0,51}$ , woraus sich die  $[\eta]$ -M-Beziehung  $[\eta] = 1,403 \cdot M^{0,53}$  aufstellen läßt. Das carboxymethylierte  $\beta$ -(1,3)-D-Glucan ergibt hierbei  $R_G = 0,025 \cdot M^{0,58}$  und analog  $[\eta] = 0,036 \cdot M^{0,74}$ . Diese Beziehungen stehen in guter Übereinstimmung mit den Literaturdaten<sup>10</sup>. Für die Gerstenglucane wird die  $R_G$ -M-Beziehung  $R_G = 0,0207 \cdot M_w^{0,57}$  angegeben und aus viskosimetrischen Messungen eine  $[\eta]$ -M-Beziehung von  $[\eta] = 0,0617 \cdot M^{0,71}$  erhalten.

Für die übrigen Werte ist eine Aufstellung der Struktur-Beziehungen nicht sinnvoll, da sich z.B. bei der Umrechnung von der  $R_G$ -M-Beziehung in die  $[\eta]$ -M-Beziehung für den Exponenten  $a$  negative Werte ergeben würden, was physikalisch unsinnig ist. Des weiteren liegen bei diesen Proben Aggregate oder Assoziat vor und eine Bestimmung eines Strukturparameters des Einzelmoleküls ist nicht gegeben. Diese Erkenntnis steht in Übereinstimmung mit den Untersuchungen der Rheo-Optik, bei denen lokale Überstrukturen gefunden worden sind, die zunächst keinen Einfluß auf das makroskopische Fließverhalten zeigen.

Die Abweichung von anderen Literaturwerten läßt sich auf die generelle Uneinheitlichkeit der Biopolymere zurückführen. Bei gleicher chemischer Struktur kann dieses Verhalten auf unterschiedliche Aggregat- bzw. Assoziatanteile der jeweils vorliegenden Probe hindeuten.

Die Untersuchungen haben hinsichtlich der hochviskosen Proben GG 300 ergeben, daß die Viskosität maßgeblich von den hochmolekularen Anteilen der Proben abhängig ist. Anhand der unterschiedlichen Fraktionierungstemperatur der Proben GG 165 läßt sich zum einen erkennen, daß die Trennung bei höherer Temperatur besser ist, aber auch die Thermoreversibilität der Aggregatanteile der Gerstenglucane zum Vorschein tritt. In den

Fällen, in denen keine Aggregate oder Assoziate aufgrund des Exponenten  $\nu$  in der Lösung zu vermuten sind, - GG 300 „II“ und carboxymethyliertes Glucan SF 215 - lassen sich sinnvolle  $R_G$ -M-Beziehungen aufstellen, die in guter Übereinstimmung mit der Literatur stehen. Durch die Bestimmung der Molmassenverteilungen der Gerstenglucane konnten erstmals erfolgreich rheo-optische Untersuchungen an diesem System durchgeführt werden.

## 5.2 Untersuchungen an Guarkernmehl

Die Eigenschaften und chemische Struktur von Guarkernmehl sind in Kapitel 2.2 Guarkernmehl beschrieben worden.

Aufgrund seiner chemischen Struktur, bestehend aus linearen Ketten  $\beta$ -(1,4)-verknüpfter Mannose-Einheiten mit Verzweigungen von Galactoseresten in Position C-6, stellt diese Substanz eine Zwischenstruktur zwischen den linear aufgebauten Glucanen und den verzweigten Amylopektin-Derivaten dar. Hier ist ein Vergleich der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der verschiedenen Systeme interessant, weshalb entsprechende Untersuchungen durchgeführt wurden.

Für die Untersuchungen standen zwei Proben verschiedener Hersteller zur Verfügung: Die eine Probe stammt von der Firma Polyscience Inc. (Warrington, USA), die andere von der Firma Lukas Meyer, The Lecithin People (Hamburg, Deutschland). Die Proben sind mit entsprechenden Herstellerangaben in **Tabelle 5.2-1** aufgeführt.

*Tabelle 5.2-1 Übersicht über die Guarkernmehl-Proben mit Probenbezeichnung in der Arbeit und Herstellerangaben.*

Probenbezeichnung in der Arbeit	Hersteller	Probenbezeichnung Hersteller	Molmassenbereich <sup>1)</sup>
PoSc	Polyscience Inc.	Guar Gum	1.000.000 – 2.000 .000
LuMe	Lukas Meyer	EMUL COLL	keine Angabe

<sup>1)</sup> Herstellerangabe

### **Trockengehaltsbestimmung**

Für die Probe PoSc ergab sich ein Trockengehalt von 92,7 %, für die Probe LuMe 93,4 %. Die Trockengehalte wurden in den weiteren Untersuchungen berücksichtigt.

### **Probenvorbereitungen**

Alle weiterführenden Untersuchungen der Proben wurden in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid durchgeführt. Die Probe des Hersteller Polyscience PoSc erwies sich entgegen den Herstellerangaben nicht als kaltwasserlöslich. Daher wurden für diese Probe zunächst verschiedene Lösungsversuche durchgeführt. Als geeignete Lösungsmethode erwies sich das Kochen in bidestilliertem Wasser unter Rückfluß mit anschließender Filtration. Die gefriergetrocknete Probe ließ sich anschließend problemlos lösen.

### **Bestimmung des Brechungsindexinkrementes**

Da noch keine vergleichbaren Werte des Brechungsindexinkrementes von Guarkernmehl in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei einer Wellenlänge von 633 nm vorlagen, mußte dieses bestimmt werden. Die Proben ergaben unabhängig vom Hersteller ein Brechungsindexinkrement von 0,147 ml/g, mit maximalen Abweichungen von 1,2 %.

### **Bestimmung des Staudinger-Indices $[\eta]$**

Die Bestimmung der Staudinger-Indices  $[\eta]$  erfolgte mittels eines Ubbelohde Kapillarviskosimeters bei 25°C in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid. Den Staudinger-Index  $[\eta]$  erhält man aus dem Achsenabschnitt der Geradensteigung der Auftragung  $\eta_{spez}/c$  gegen die Konzentration  $c$  der einzelnen Verdünnungen der Konzentrationsreihe. Der Koeffizient  $k_\eta$  der  $[\eta]$ -M-Beziehung läßt sich aus der Geradensteigung ermitteln. Die jeweiligen Proben gaben im Mittelwert die in **Tabelle 5.2-2** dargestellten Ergebnisse.

Tabelle 5.2-2 Staudinger-Indices  $[\eta]$  und Koeffizienten  $k_\eta$  der  $[\eta]$ -M-Beziehung aus viskosimetrischen Messungen.

Probe	$[\eta]$ (cm <sup>3</sup> /g)	$k_\eta$
PoSc	151 ± 24	0,563 ± 0,087
LuMe	275 ± 39	0,304 ± 0,048

### Messung mittels der gekoppelten Anlage SEC/MALLS/RI

Die Bestimmung der Molmasse und deren Verteilung ergab für die Probe PoSc einen deutlich kleineren Molmassenmittelwert  $M_w$ , als es der Spezifikation des Herstellers entspricht. Der Verlauf des Konzentrationssignals ist monomodal, wohingegen im Streulichtsignal eine leichte Schulter zur hochmolekularen Flanke zu erkennen ist. Das Streulichtsignal der Probe LuMe steigt recht steil an und zeigt kurz vor dem Peakmaximum eine kleine Schulter. Diese ist auch im Konzentrationssignal zu erkennen, welches jedoch nicht ganz so steil wie das Streulichtsignal ansteigt. Wäre der Verlauf beider Signale gleich zu Beginn steil, könnte eindeutig auf Größenausschluß zurückgeschlossen werden. Bei dem vorliegenden Verlauf können jedoch nur geringe Teile der Probe größen-ausgeschlossen worden sein, so daß es gerechtfertigt ist, die erhaltenen Werte für weitere Aussagen heranzuziehen. Das Elutionsdiagramm der Molmasse mit Konzentrations- und Streulichtsignal ist in **Abbildung 5.2-1** dargestellt.

Aus den Messungen dieser Proben lassen sich auch die Trägheitsradien bestimmen. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 5.2-3** aufgeführt.

Tabelle 5.2-3 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der Guarkernmehle hinsichtlich der mittleren Molmassen, Polydispersität  $M_w/M_n$ , des Trägheitsradius  $R_{G_z}$ , des Exponenten der  $R_G$ -M-Beziehung und der Wiederfindungsrate.

Probe	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	$R_{G_z}$ (nm)	$\nu$	WR (%) <sup>*</sup>
PoSc	39.600	74.200	124.000	1,9	22	0,37	89,4
LuMe	1.468.000	1.900.000	2.105.000	1,3	129	0,54	74,8

<sup>\*</sup> Wiederfindungsrate

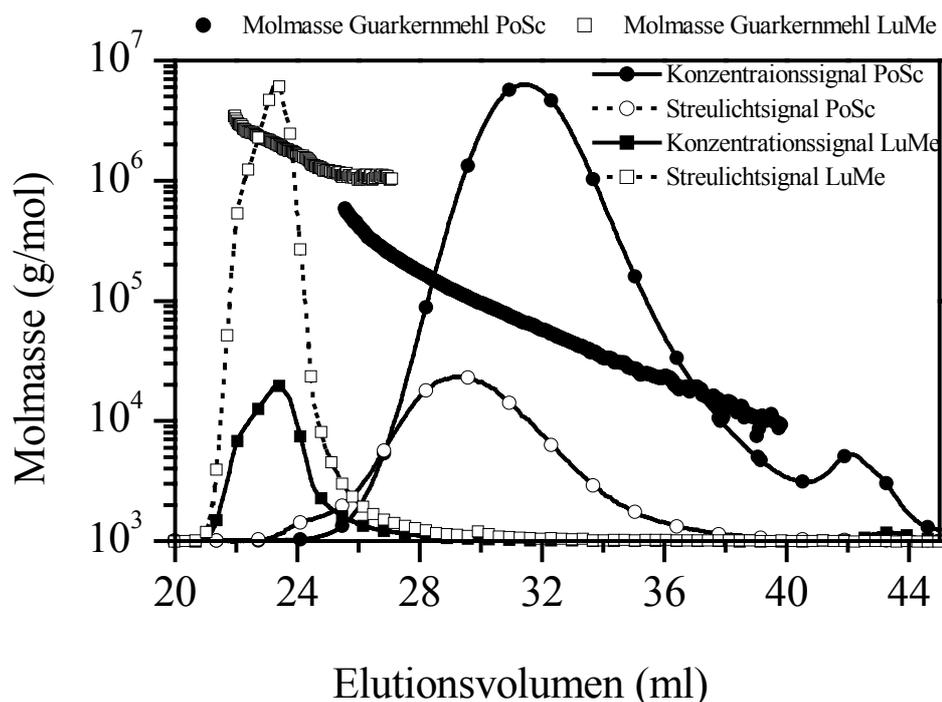


Abbildung 5.2-1 Molmasse gegen Elutionsverlauf der Guarkernmehle aus SEC/MALLS/RI-Messungen. Hinterlegt ist das Diagramm mit dem Konzentrations- (geschlossene Symbole mit durchgezogener Linie) und Streulichtsignalen (offene Symbole mit gepunkteter Linie).

Aus der Steigung der doppellogarithmischen Darstellung des Radius gegen die Molmasse ergibt sich der Exponent  $\nu$  der  $R_G$ -M-Beziehung. Wie aus der **Abbildung 5.2-2** ersichtlich ist, erhält man für die Probe LuMe wie für lineare Moleküle zu erwarten ist, eine Gerade. Die Probe PoSc zeigt für kleine Molmassen einen Anstieg der Radien, wie es bei verzweigten Molekülen der Fall ist.

Aus den Daten der SEC/MALLS/RI-Messung läßt sich für die Probe PoSc die  $R_G$ -M-Beziehung  $R_G = 0,352 \cdot M^{0,37}$  aufstellen und über die Fox-Flory-Theorie die  $[\eta]$ -M-Beziehung  $[\eta] = 3,02 \cdot 10^2 \cdot M^{0,11}$  berechnen. Analog erhält man für die Probe LuMe  $R_G = 0,069 \cdot M^{0,52}$  und  $[\eta] = 1,326 \cdot M^{0,56}$ .

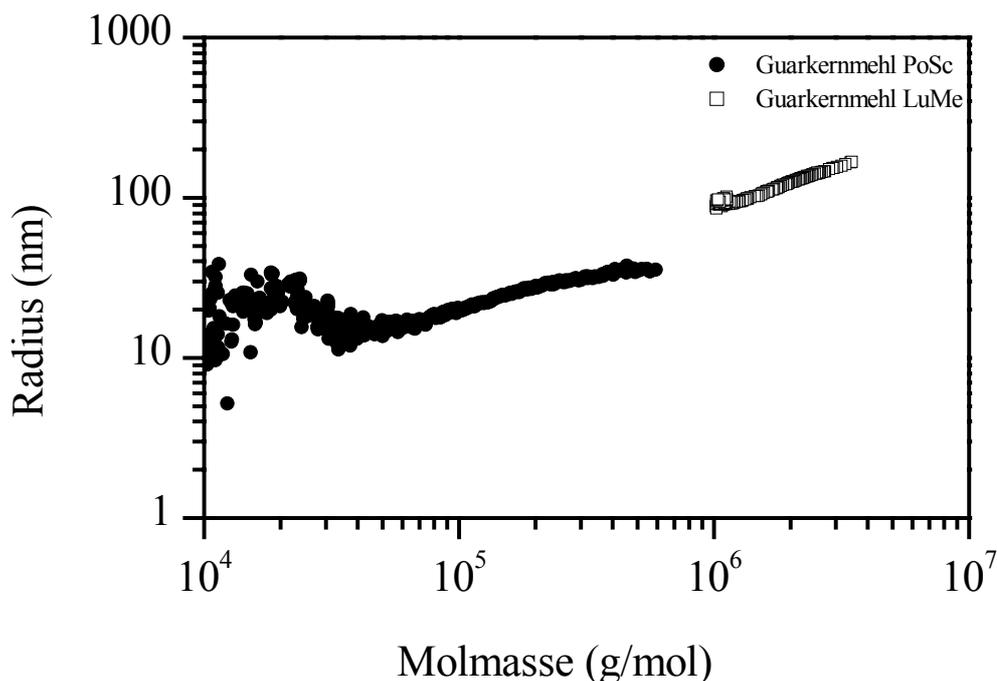


Abbildung 5.2-2 Doppellogarithmische Auftragung des Trägheitsradius gegen die Molmasse der Guarkernmehle.

Mit den aus den Streulichtmessungen erhaltenen Werten  $M_w$  für die Molmassen kann man aus den viskosimetrischen Messungen die  $[\eta]$ - $M$ -Beziehung aufstellen und daraus die  $R_G$ - $M$ -Beziehung berechnen. Damit erhält man für die Probe PoSc  $[\eta] = 0,563 \cdot M^{0,50}$  und  $R_G = 0,053 \cdot M^{0,50}$ , für die Probe LuMe analog  $[\eta] = 0,304 \cdot M^{0,48}$  und  $R_G = 0,043 \cdot M^{0,49}$ .

Hieraus wird ersichtlich, daß sich aus den viskosimetrischen Messungen durchaus physikalisch sinnvolle Struktur-Eigenschafts-Beziehungen für beide Proben aufstellen lassen. Das selbe gilt auch für die aus den SEC/MALLS/RI-Messungen ermittelten Werte der Probe LuMe. Die viskosimetrischen Ergebnisse liefern dabei Ergebnisse für ein Knäuel, das gegenüber dem  $\theta$ -Zustand leicht zusammengeschrumpft vorliegt, hingegen bei den SEC/MALLS/RI-Messungen auf eine etwas aufgeweitete Struktur schließen läßt. Dennoch sind diese Ergebnisse unter Berücksichtigung der Schwächen der Theorie in recht guter Übereinstimmung. Die SEC/MALLS/RI-Messungen für die Probe PoSc liefern hingegen keine mit den anderen vergleichbaren Werte. Sie zeigt in der Auftragung des Radius gegen die Molmasse auch das Verhalten einer verzweigten Probe, für die sich die Fox-Flory-Theorie streng genommen nicht anwenden läßt.

### 5.3 Untersuchungen an Wachsmaisstärke

Wachsmaisstärke (WMS) ist eine Amylopektin-reiche Stärke. Sie wird nicht direkt als Blutplasmaersatzmittel verwendet, da sie zu schnell von körpereigener  $\alpha$ -Amylase abgebaut wird. Wachsmaisstärke dient jedoch als Grundstoff für Derivate wie etwa Hydroxyethylstärke, welche als Blutplasmaersatzstoffe Verwendung finden.

Wie in Kapitel 2.3 Stärke ausgeführt, ist Stärke ein Homoglucan. Amylopektin besteht dabei aus  $\alpha$ -(1,4)-glykosidisch verknüpften D-Glucose-Einheiten, wobei Verzweigungen in Position 6 auftreten.

Die hier untersuchten Wachsmaisstärken der Firma Fresenius sollten als Ausgangsstoff für an ausschließlich an Position 2 substituierte Acetylstärken (s. Kapitel 5.5 Untersuchungen an Acetylstärke) dienen. Hierfür mußte die native Stärke auf einen in der Medizin verwendeten Molmassenbereich zwischen 100.000 – 500.000 g/mol degradiert werden. Es wurden daher zwei verschiedene Degradationsmethoden - Ultraschall (US) und enzymatische Degradation - hinsichtlich ihrer Eignung für den Abbau überprüft. Dafür wurden mit den einzelnen Methoden zunächst Abbaureihen erstellt, die bezüglich ihrer Molmasse und deren Verteilung charakterisiert wurden.

Der enzymatische Abbau erwies sich für die erforderlichen Substanzmengen als geeignete Abbaumethode. Es wurden mehrere Stärken unterschiedlicher Molmasse mittels enzymatischem Abbaus durch  $\alpha$ -Amylase hergestellt. Von diesen Stärken wurde im Vergleich zur nativen Stärke das Brechungsindexinkrement bestimmt. In einem weitergehenden Versuch bezüglich der Lagerstabilität der Acetylstärken (s. Kapitel 5.5 Untersuchungen an Acetylstärke) wurden zwei dieser Proben hinsichtlich ihres Lagerverhaltens in Lösung überprüft.

Von der Firma Fresenius lagen zwei native Wachsmaisstärken vor, die sich in ihrer Chargennummer unterscheiden. Eine der Proben wurde für den Ultraschallabbau, die andere für die enzymatische Degradation eingesetzt.

In **Tabelle 5.3-1** sind die aus SEC/MALLS/RI-Messungen erhaltenen Daten für diese beiden Proben angegeben. Als Brechungsindexinkrement wurde ein Wert von 0,140 ml/g verwendet (s. hierzu Bestimmung des Brechungsindexinkrements). Die Proben unterscheiden sich nicht wesentlich in ihrer gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$ , jedoch bezüglich ihrer Polydispersität. Die Probe 1 für Ultraschallabbau (US-Abbau) ist um einen Faktor von 1,6 enger in ihrer Verteilung als die Probe 2 für enzymatischen Abbau.

Tabelle 5.3-1 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der nativen Stärken der Firma Fresenius.

Probe	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
1 für US-Abbau	345.000	1.229.000	2.646.000	3,6	88,1
2 für enzymatischen Abbau	218.000	1.210.000	2.817.000	5,6	87,1

### 5.3.1 Abbaureihen

#### Ultraschallabbau

Die Molmasse und deren Verteilung der durch Ultraschall abgebauten Probe wurde mittels der kombinierten SEC/MALLS/RI-Anlage bestimmt. Im Streulichtsignal ist hierbei eine Schulter zu hochmolekularen Anteilen zu erkennen (**Abbildung 5.3.1-1**), die sich mit längerer Abbaudauer verstärkt.

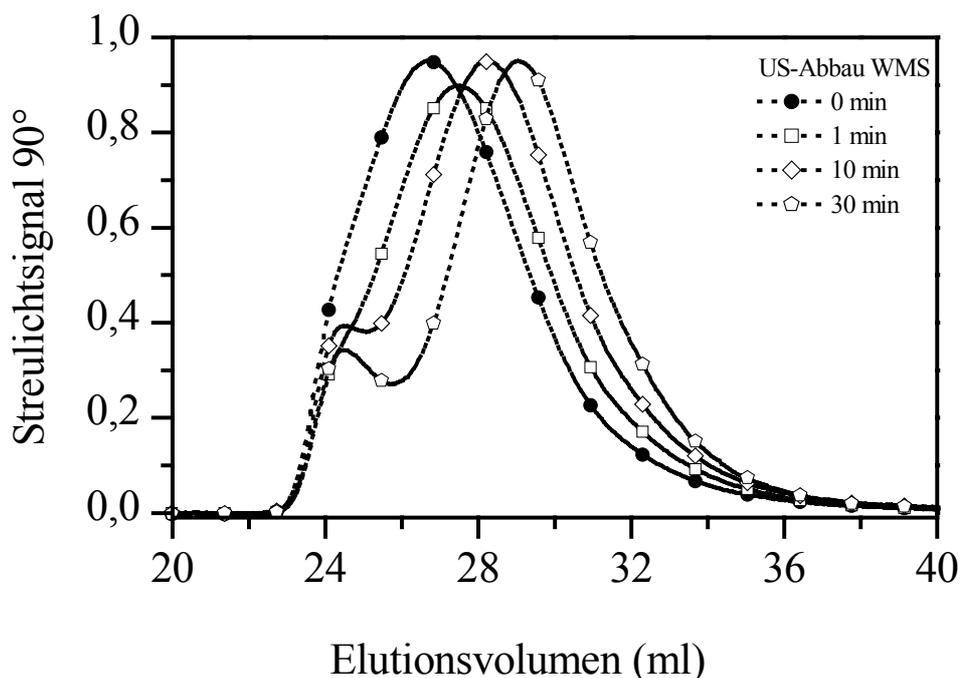


Abbildung 5.3.1-1 Verlauf der Streulichtsignale der mittels Ultraschall abgebauten WMS. Zur besseren Übersicht sind nur 4 der insgesamt 7 Abbaudauern dargestellt.

Im Konzentrationssignal (**Abbildung 5.3.1-2**) ist eine Schulter zu niedermolekularen Anteilen zu erkennen, deren Intensität mit längerer Abbaudauer sinkt. Im Bereich des

Peak zu kleinen Elutionsvolumen mit Streulichtintensität ist das Konzentrationssignal sehr gering.

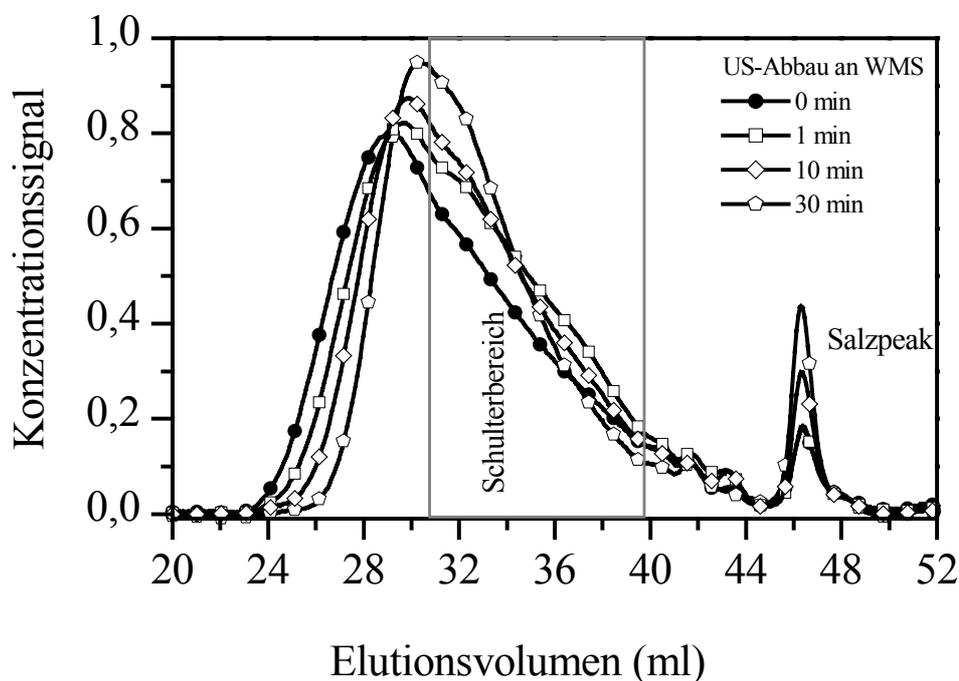


Abbildung 5.3.1-2 Verlauf des Konzentrationssignals der mittels Ultraschall abgebauten WMS. Zur besseren Übersicht sind nur 4 der insgesamt 7 Abbauezeiten dargestellt.

**Abbildung 5.3.1-3** zeigt die kumulative Molmassenverteilung der Ultraschall-abgebauten Wachsmaisstärke. In dieser Darstellung ist deutlich der relativ starke Abbau zu sehen, der nach einer Minute erzielt worden ist. Längere Abbauezeiten führen zu weiterem Abbau, der aber im Vergleich zu kurzen Abbauezeiten nicht mehr so stark ist. Es ist ebenfalls zu erkennen, daß der Abbau überwiegend im Bereich der hochmolekularen Flanke stattfindet, so daß sich die Kurven der kumulativen Verteilungen nahezu in einem Punkt für kleine Molmassen treffen.

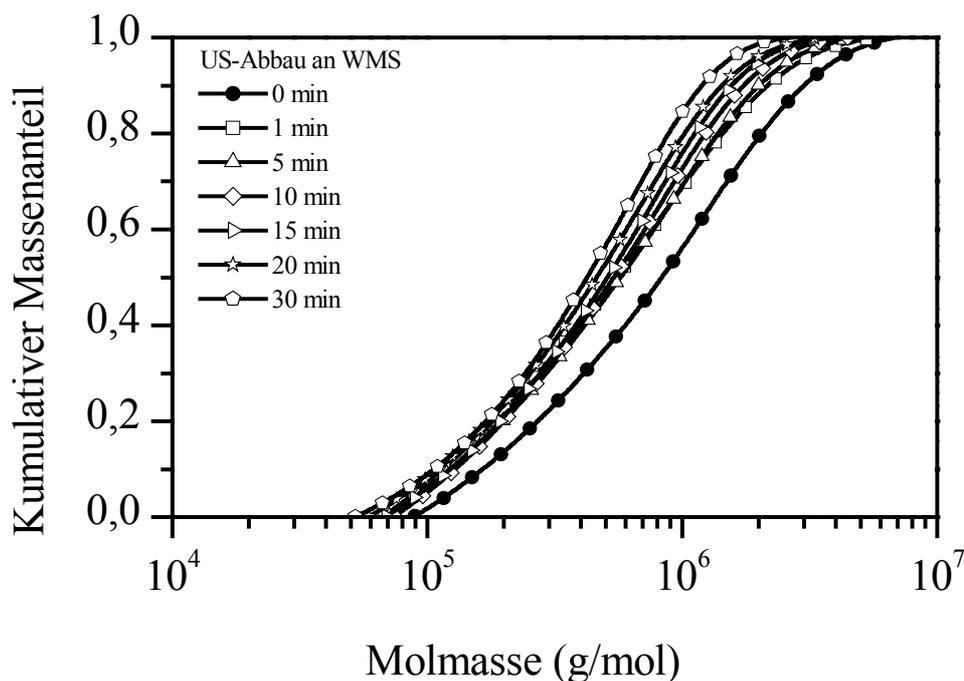


Abbildung 5.3.1-3 Kumulative Molmassenverteilungen der mittels Ultraschall abgebauten WMS in Abhängigkeit der Abbaudauer.

In **Tabelle 5.3.1-1** sind die Ergebnisse aus den SEC/MALLS/RI-Messungen dargestellt.

Tabelle 5.3.1-1 Molmassen der Ultraschall abgebauten Wachsmaisstärken.

US Abbau (min)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
0	345.000	1.229.000	2.646.000	3,6	88,1
1	247.000	863.000	1.861.000	3,7	85,5
5	212.000	821.000	1.750.000	3,5	94,2
10	229.000	698.000	1.374.000	3,1	93,7
15	239.000	670.000	1.281.000	2,8	86,3
20	227.000	633.000	1.326.000	2,8	98,4
30	197.000	545.000	982.000	2,8	97,0

Anhand der Daten kann man erkennen, daß die Molmassen wie erwartet mit der Dauer der Ultraschalldegradation abnehmen. Hierbei werden auch die Polydispersitäten  $M_w/M_n$  geringer, scheinen sich aber nach 15 Minuten nicht mehr stark zu verändern. In der Auftragung (**Abbildung 5.3.1-4**) der normierten gewichtsmittleren Molmasse (normiert = alle erhaltenen Molmassen werden durch die Ausgangsmolmasse dividiert) erkennt man

deutlich die exponentielle Abnahme der Molmasse mit der Dauer der Ultraschalldegradation.

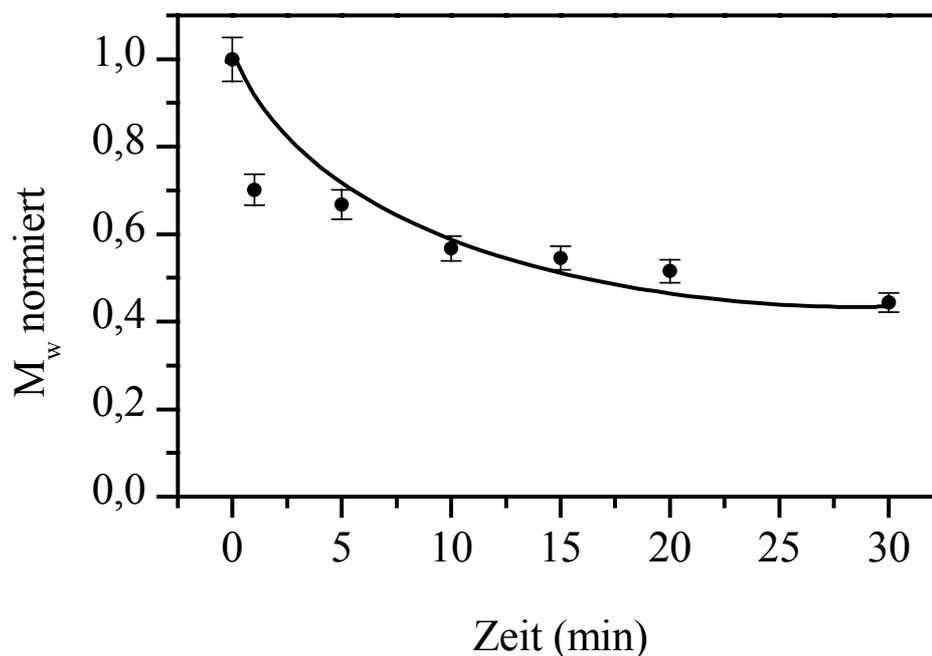


Abbildung 5.3.1-4 Darstellung der normierten gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  in Abhängigkeit von der Abbaudauer.

Anhand dieser Versuche ließ sich feststellen, daß der Abbau mittels Ultraschall in die gewünschten Molmassenbereiche sehr zeitintensiv ist und zudem durch einen Abbau mit der vorhandenen Apparatur nur jeweils maximal 0,8 g Endprodukt erhalten werden konnte. Daher wurde für den Abbau auf bestimmte Molmassen der enzymatische Abbau gewählt.

### Enzymatischer Abbau (Abbaureihen)

Für den späteren gezielten Abbau der Wachsmaisstärke mit  $\alpha$ -Amylase mußten die geeigneten Bedingungen gefunden werden, was die Abbaupzeit in Bezug auf die gewünschte Molmasse als auch auf die Art des Abbruchs betrifft.

Die Bedingungen für die verschiedenen Abbaureihen sind in Kapitel 7 Experimenteller Teil, Kapitel 7.6 Enzymatischer Abbau dargestellt. Für den enzymatischen Abbau wurde aufgrund der größeren vorhandenen Menge die 1 für enzymatischen Abbau gewählt.

Die Ergebnisse der ersten Abbaureihe sind in **Tabelle 5.3.1-2** aufgeführt. Man erkennt eine Abnahme der Molmasse wie auch der Polydispersität. Auffallend ist ebenfalls, daß die Wiederfindungsraten mit der Abbaudauer schlechter werden und erst die aufgearbeitete Probe gute Wiederfindungsraten liefert. Hieran wird im Vergleich zum Ultraschall ersichtlich, daß beim Abbau durch das Enzym  $\alpha$ -Amylase sehr wohl auch kleine Bruchteile wie Mono- und Oligomere entstehen, die durch die Lichtstreuung nicht erfaßt werden können. Ein sorgfältiges Aufarbeiten der Proben ist also unbedingt erforderlich.

*Tabelle 5.3.1-2 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der ersten enzymatischen Abbaureihe.*

enzym. Abbau (min)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
native Probe	219.000	1.194.000	2.866.000	5,5	82,2
0	220.000	1.191.000	2.785.000	5,4	84,8
5	202.000	1.004.000	2.433.000	5,0	84,9
10	200.000	950.000	2.277.000	4,8	85,4
15	167.000	844.000	2.047.000	5,1	83,2
30	145.000	692.000	1.659.000	4,8	93,6
60	104.000	428.000	1.025.000	4,1	82,9
120	75.000	215.000	487.000	2,9	82,5
300	41.200	77.000	142.000	1,9	69,5
1290	17.200	24.800	35.400	1,4	53,3
aufgearbeitete Probe	17.300	25.300	37.200	1,4	90,0

Das Streulichtsignal (**Abbildung 5.3.1-5**) zeigt für alle Proben der verschiedenen Abbauezeiten ein monomodales Verhalten. Erwartungsgemäß verschiebt sich das Peakmaximum zu höheren Elutionsvolumina.

Im Konzentrationssignal ist für die Ausgangsprobe und für die Proben der kleinen Abbauezeiten eine Schulter zu niedermolekularen Anteilen der Proben zu erkennen (**Abbildung 5.3.1-6**). Diese verschwindet mit zunehmender Abbaudauer. Ein Peak zu niedermolekularen Molmassen (Elutionsbereich 41 - 44 ml) wird in der Intensität mit längerer Abbauezeit stärker. Dieser hat im Streulichtsignal jedoch keine Intensität, und wird daher bei der Bestimmung der Molmassen und damit auch der Wiederfindungsraten nicht mit einbezogen. Wie schon die schlechten Wiederfindungsraten bei längerer

Abbaudauer zeigten, entstehen durch die enzymatische Degradation niedermolekulare Bruchstücke.

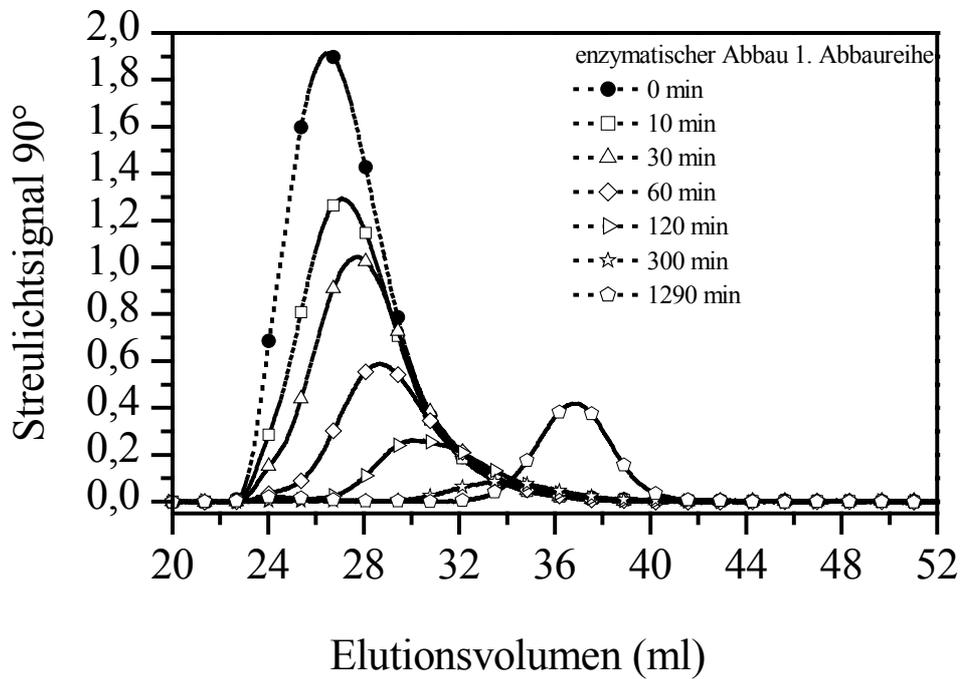


Abbildung 5.3.1-5 Verlauf der Streulichtsignals bei einem Winkel von 90° der ersten enzymatischen Abbaureihe der WMS.

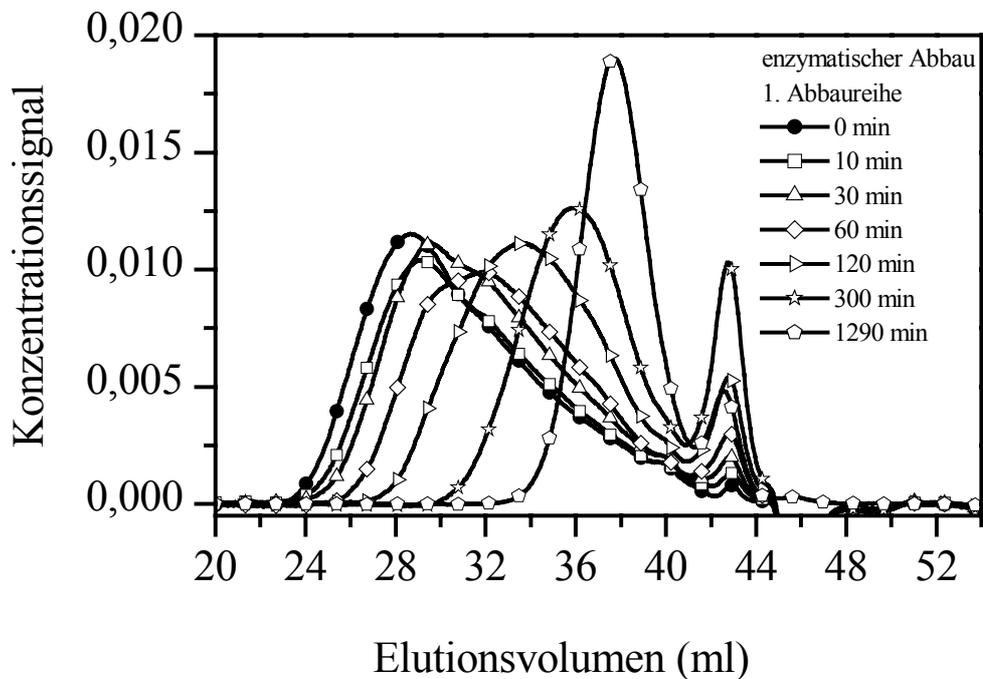


Abbildung 5.3.1-6 Verlauf der Konzentrationssignale der ersten enzymatischen WMS-Abbaureihe.

Aus der differentiellen Molmassenverteilung (**Abbildung 5.3.1-7**) ist ersichtlich, daß die Molmasse insgesamt abnimmt und die Verteilungen enger werden. Bei den hochmolekularen Proben ist der bimodale Charakter gut zu erkennen.

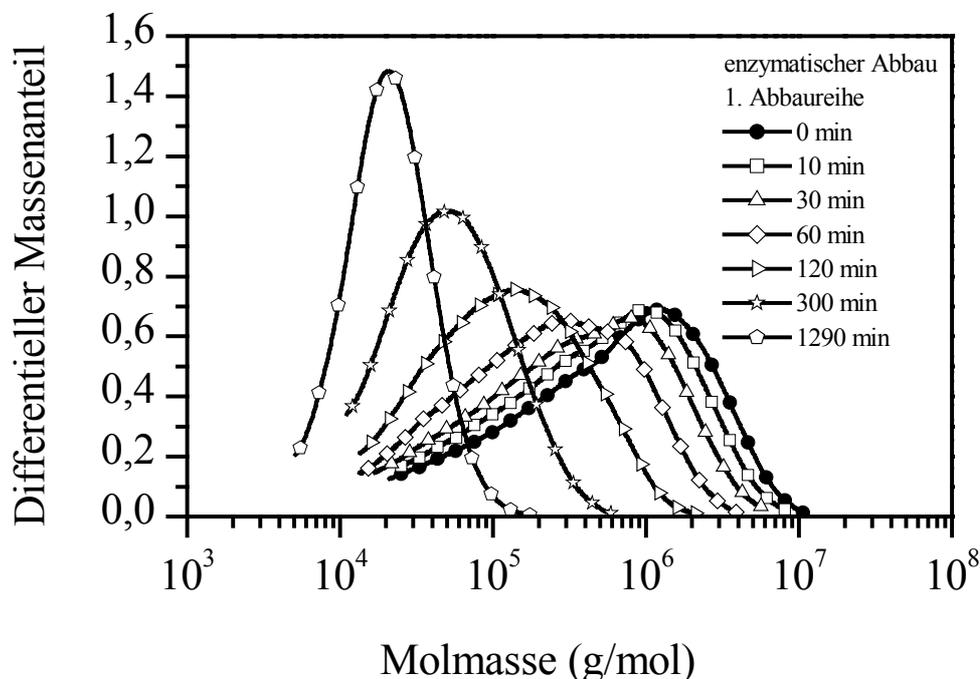


Abbildung 5.3.1-7 Differentielle Molmassenverteilungen der ersten enzymatischen Abbaureihe der WMS.

Die Untersuchungen anhand der zweiten enzymatischen Abbaureihe weisen die gleichen Ergebnisse auf, die auch bei der ersten Abbaureihe gefunden worden sind. Die aus den SEC/MALLS/RI-Messungen ermittelten Daten sind in **Tabelle 5.3.1-3** aufgeführt.

Anhand des Elutionsdiagramms der Konzentration (**Abbildung 5.3.1-8**) erkennt man, daß nur die Ausgangsprobe sowie die Probe nach 30 Minuten Abbaudauer eine Bimodalität zeigt. Alle anderen Proben zeigen in diesem Bereich Monomodalität. Für sehr kleine Molmassen, für die im Streulichtsignal keine Intensität erscheint, nimmt die Intensität des Konzentrationssignals zu. Der Verlauf des Streulichtsignals ist für alle Proben monomodal und wird daher nicht nochmals abgebildet, da das Verhalten erwartungsgemäß ist.

Tabelle 5.3.1-3 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messung der zweiten enzymatischen Abbaureihe der WMS.

enzym. Abbau (min)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
0	224.000	1.217.000	2.719.000	5,4	87,4
30	142.000	545.000	1.288.000	3,9	83,6
60	82.000	289.000	669.000	3,5	83,3
90	67.000	185.000	414.000	2,8	79,6
120	48.000	124.000	267.000	2,6	78,6
150	41.000	91.000	183.000	2,2	74,6
180	39.000	70.000	122.000	1,8	69,9
210	32.000	55.000	95.000	1,7	64,4
240	23.000	37.000	62.000	1,6	60,4
aufgearbeitete Probe	17.000	26.500	39.600	1,5	94,3

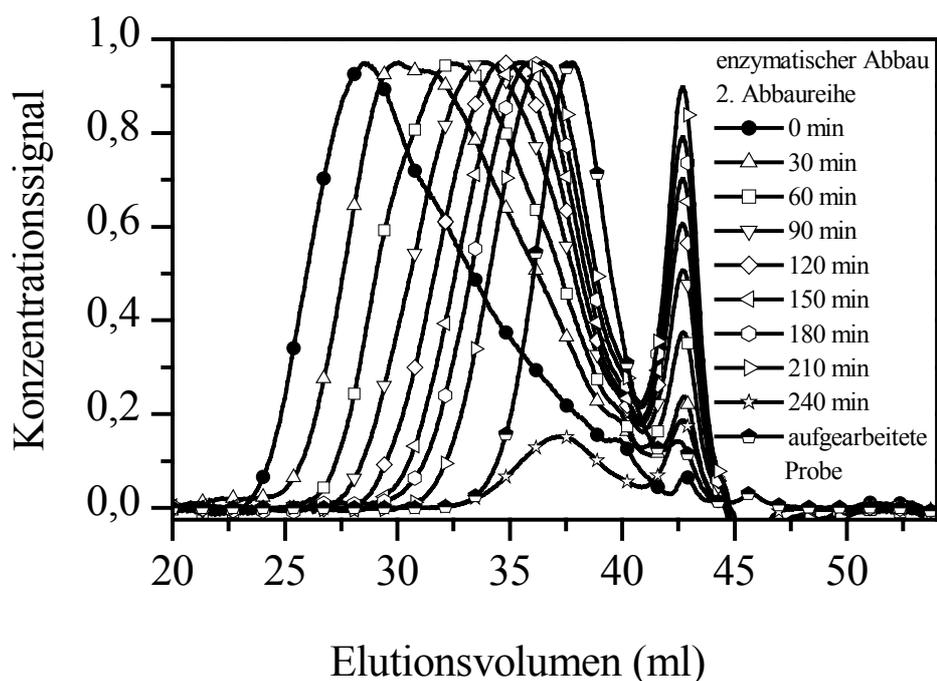


Abbildung 5.3.1-8 Darstellung des Konzentrationssignals gegen das Elutionsvolumen der zweiten enzymatischen Abbaureihe der WMS.

In der Darstellung der differentiellen Molmassenverteilung (**Abbildung 5.3.1-9**) kann man die Bimodalität der ersten beiden Proben erkennen. Es ist ebenfalls gut zu sehen, daß die Verteilungen mit zunehmender Zeitdauer enger werden.

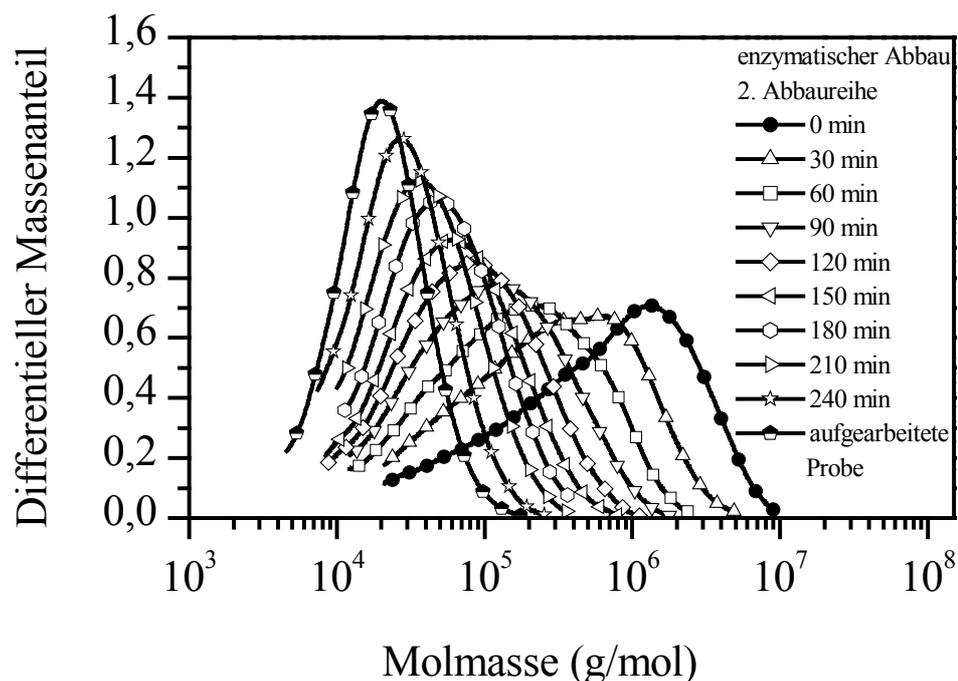


Abbildung 5.3.1-9 Differentielle Molmassenverteilungen der zweiten enzymatischen Abbaureihe der WMS.

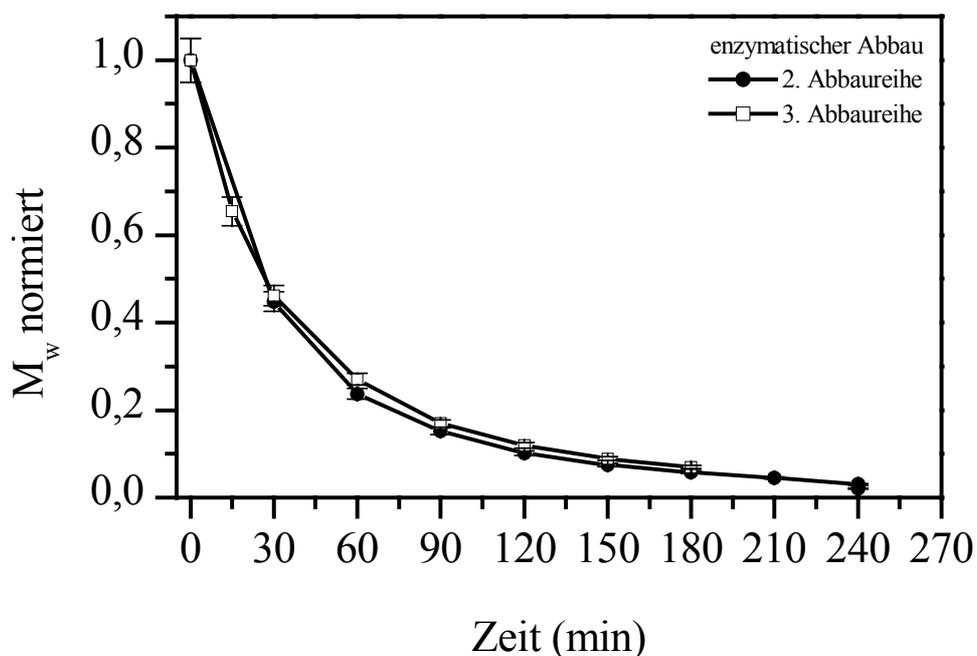
Die dritte Abbaureihe entspricht den Ergebnissen der ersten und zweiten. Da die Elutionsdiagramme und der Verlauf der differentiellen Molmasse analog zu diesen verläuft, werden keine weiteren Diagramme zu dieser Probe dargestellt. Die Ergebnisse dieser Abbaureihe sind in **Tabelle 5.3.1-4** zusammengefaßt.

Tabelle 5.3.1-4 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der dritten enzymatischen Abbaureihe der WMS.

enzym. Abbau (min)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
0, pH 2	233.000	1.238.000	2.826.000	5,3	88,6
15, pH 1,5	142.000	810.000	1.956.000	5,6	87,3
30, pH 2	120.000	571.000	1.402.000	4,8	86,0
60, pH 2,3	98.000	335.000	792.000	3,4	82,4
90, pH 1,7	67.000	210.000	480.000	3,1	81,3
120, pH 2,6	53.000	148.000	329.000	2,8	79,6
150, pH 1,4	48.000	111.000	230.000	2,3	75,1
180, pH 2,5	38.800	86.000	175.000	2,2	74,2
aufgearbeitete Probe	38.300	86.000	176.000	2,2	94,6

Die Abbaupzeit zum Erreichen einer Molmasse von 200.000 g/mol liegt in Abhängigkeit der Konzentration der  $\alpha$ -Amylase zwischen 90 und 120 Minuten. Der enzymatische Abbau läßt sich schnell und gut mittels Zugabe von Chlorwasserstoffsäure stoppen. Da anschließend neutralisiert wird, läßt sich ein säurekatalysierter hydrolytischer Abbau ausschließen.

**Abbildung 5.3.1-10** zeigt den auf die Ausgangsmolmasse normierten enzymatischen Abbau der zweiten und dritten Abbaureihe. Diese beiden Abbaureihen wurden aufgrund nahezu gleicher Abbauintervalle und der unterschiedlichen Abbruchmethoden gewählt. Die Übereinstimmung der erhaltenen Molmassen nach den verschiedenen Abbaupzeiten ist beträchtlich. Auch hier ist wie beim Ultraschallabbau ein exponentieller Abfall der Molmasse mit der Abbaudauer zu sehen. Es können im Vergleich zum Ultraschall kleinere Molmassen erhalten werden. Anhand von **Abbildung 5.3.1-11** wird deutlich, daß im Falle des Ultraschallabbaus zu Beginn eine recht schnelle Degradation im Vergleich zum enzymatischen Abbau erfolgt. Doch schon nach relativ kurzer Zeit wird beim Ultraschallabbau das Grenzmolekulargewicht erreicht, welches ca. bei der Hälfte der Ausgangsmolmasse der Probe liegt. Der Abbau durch das Enzym  $\alpha$ -Amylase verläuft vergleichsweise langsamer, es können jedoch kleinere Molmassen erhalten werden.



*Abbildung 5.3.1-10 Normierte Molmassen gegen Abbaupzeit der enzymatischen Abbaureihen 2 und 3.*

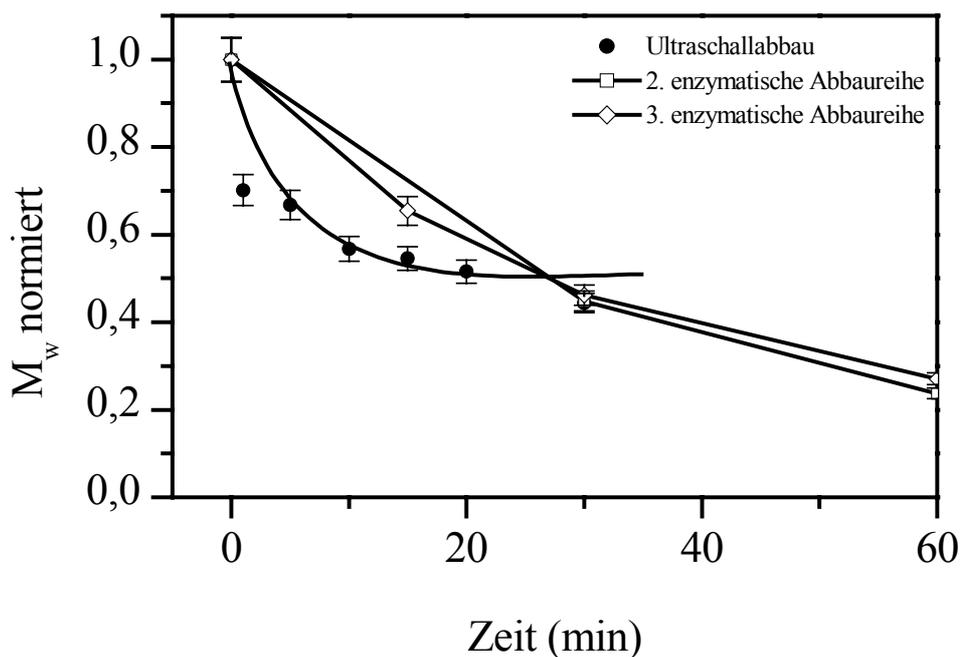


Abbildung 5.3.1-11 Vergleich der normierten Molmassen aus dem Ultraschallabbau und dem enzymatischen Abbau der zweiten und dritten Abbaureihe.

### 5.3.2 Gezielter Abbau

Aus den abgebauten Wachsmaisstärken sollten 2-O-Acetylstärken hergestellt werden. In den vorangegangenen Untersuchungen bezüglich des Abbaus hat sich ergeben, daß ein enzymatischer Abbau am geeignetsten ist, da größere Mengen in besserer Reproduzierbarkeit hergestellt werden können. Der enzymatische Abbau ist gegenüber dem Ultraschallabbau auch deshalb vorzuziehen, weil sich hier nicht eine so deutlich ausgeprägte hochmolekulare Flanke ausbildet und man monomodal verteilte Proben erhält. Der Abbaustop mit Salzsäure hat sich als am geeignetsten erwiesen, da so unmittelbar und effektiv gestoppt wird. Der Zusatz von Salzsäure führt nach anschließender Neutralisation nicht zu einem weiteren Abbau der Stärke.

Von der Stärke wurden insgesamt acht Abbauprodukte hergestellt. Für die Behandlung der Wachsmaisstärke und die Reaktionsbedingungen siehe Kapitel 7 Experimenteller Teil, Kapitel 7.6 Enzymatischer Abbau. Die Charakterisierung der Proben erfolgte mittels SEC/MALLS/RI einmal unmittelbar nach dem jeweiligen Abbau und nach Aufarbeiten der Probe ein weiteres mal. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in **Tabelle 5.3.2-1**

dargestellt. Dabei sind zunächst jeweils die Daten der ungereinigten und anschließend der gereinigten Probe aufgeführt.

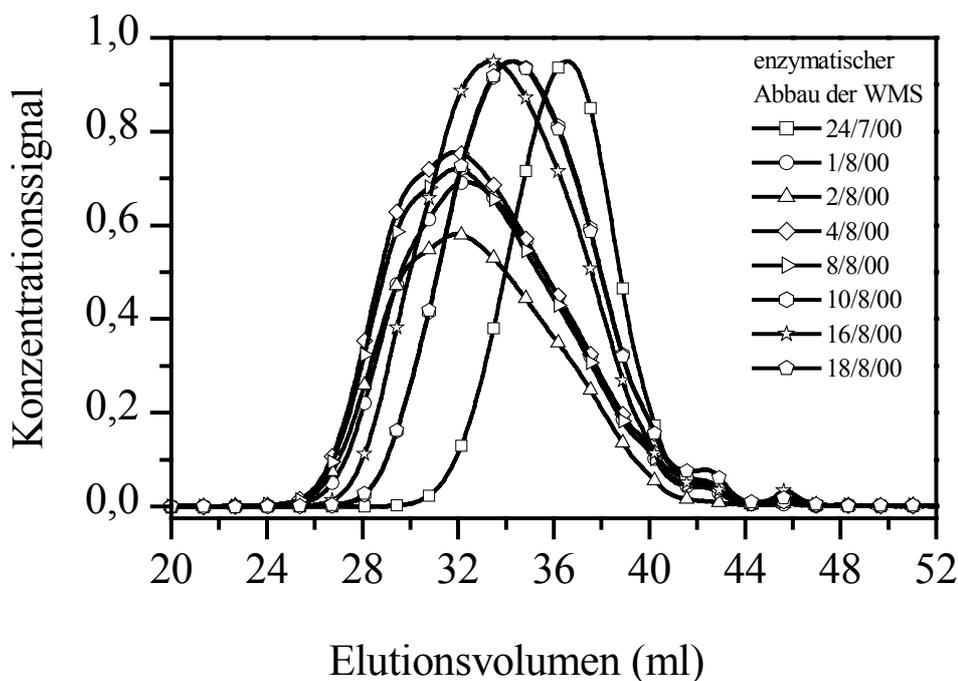
*Tabelle 5.3.2-1 SEC/MALLS/RI-Ergebnisse der ungereinigten (grau hinterlegt) und der aufgearbeiteten Proben der enzymatisch abgebauten WMS.*

Probe	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
24/7/00	33.000	59.000	107.000	1,8	65,3
24/7/00	30.000	58.000	114.000	2,0	97,7
1/8/00	95.000	342.000	848.000	3,6	83,7
1/8/00	92.000	334.000	806.000	3,61	99,8
2/8/00	104.000	397.000	956.000	3,8	86,3
2/8/00	104.000	397.000	942.000	3,8	98,1
4/8/00	104.000	420.000	1.019.000	4,0	83,4
4/8/00	103.000	414.000	1.015.000	4,0	97,1
8/8/00	105.000	402.000	957.000	3,8	84,2
8/8/00	117.000	421.000	963.000	3,6	97,4
10/8/00	56.000	151.000	329.000	2,7	78,8
10/8/00	58.000	154.000	339.000	2,7	99,9
16/8/00	65.000	224.000	532.000	3,4	83,8
16/8/00	68.000	221.000	520.000	3,3	99,2
18/8/00	60.000	161.000	364.000	2,7	79,3
18/8/00	60.000	154.000	340.000	2,6	98,3

Die Ergebnisse stimmen selbst innerhalb der Fehlergrenzen außerordentlich gut überein. Auffallend ist, daß die Wiederfindungsraten nach dem Aufarbeiten der Proben besser sind als die der ungereinigten Proben. Dies läßt sich damit erklären, daß große Probenbestandteile durch den Aufarbeitungsprozeß entfernt worden sind. Die relativ schlechten Wiederfindungsraten der ungereinigten Probe 24/7/00 lassen sich aufgrund der kleinen Molmasse dieser Probe erklären. Die Probe ist sehr weit abgebaut worden und es läßt sich ein niedermolekularer Probenanteil vermuten, der durch die Lichtstreuung nicht detektiert werden kann.

Die Ergebnisse des enzymatischen Abbaus von 2/8/00, 4/8/00 und 8/8/00 sowie die von 10/8/00 und 18/8/00 stimmen nahezu ihrer gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  überein.

Anhand der Konzentrationsverläufe in **Abbildung 5.3.2-1** erkennt man, daß die höhermolekularen Proben (1/8/00, 2/8/00, 4/8/00 und 10/8/00) eine leichte Schulter zu kleineren Elutionsvolumina aufweisen. Im Streulichtsignal (**Abbildung 5.3.2-2**) zeigen alle Proben zu hohen Molmassen einen kleinen Peak oder eine Schulter, der jedoch keine Konzentrationsintensität zuzuordnen ist.



*Abbildung 5.3.2-1 Konzentrationsverläufe der enzymatisch abgebauten WMS.*

In der differentiellen Darstellung der Molmassen (**Abbildung 5.3.2-3**) kann man die Bimodalität der höhermolekularen Proben erkennen. Die Proben mit kleineren Molmassen (kleiner als 300.000 g/mol) zeigen monomodales Verhalten. Hier geht der geringe hochmolekulare Anteil nicht ein.

Für den medizinischen Einsatz kommen Derivate der Proben - mit Ausnahme von Probe 24/7/00, deren Molmasse zu gering ist - in Frage. Die Proben wurden zur Derivatisierung an die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Heinze, Universität Jena, weitergeleitet.

Des weiteren wurden an diesem Probensatz und der nativen Stärke Untersuchungen hinsichtlich des Brechungsindexinkrementes durchgeführt.

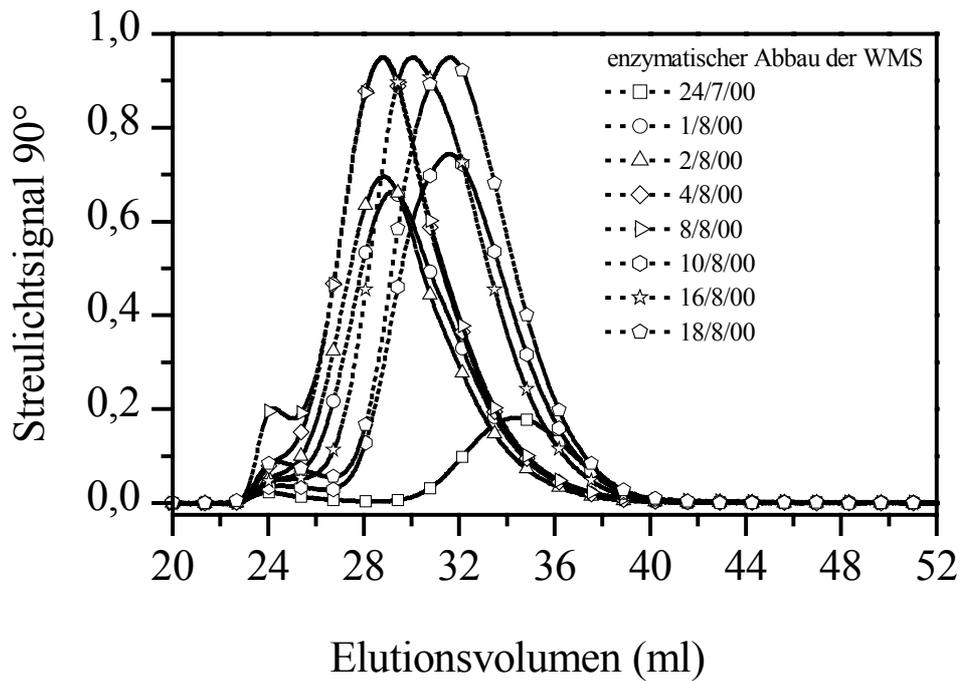


Abbildung 5.3.2-2 Streulichtsignale des 90° Winkels der enzymatisch abgebauten WMS.

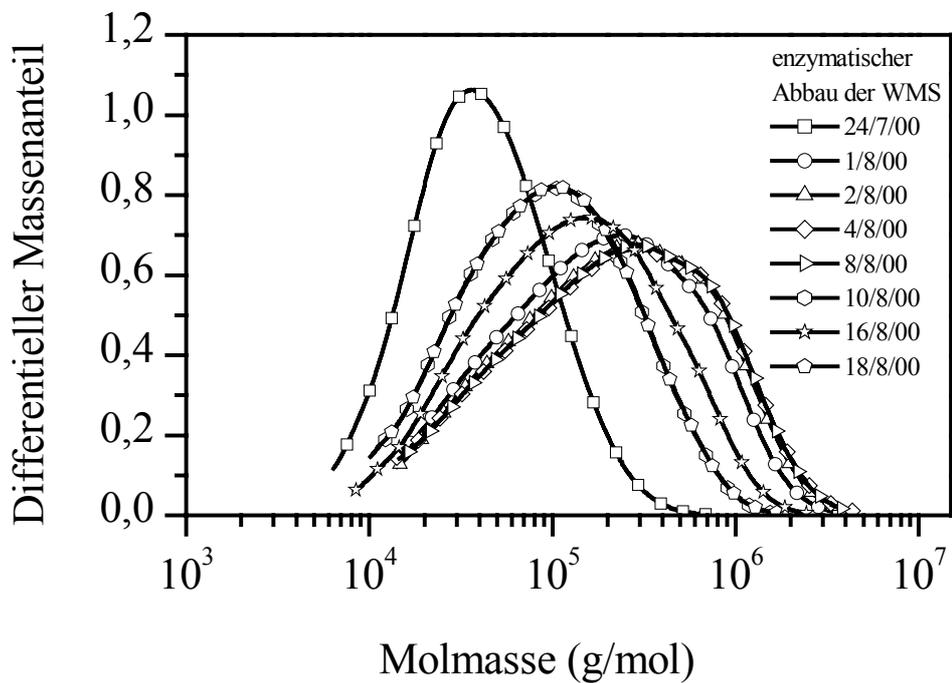


Abbildung 5.3.2-3 Differentielle Molmassenverteilung der enzymatisch abgebauten WMS.

### 5.3.3 Brechungsindexinkrementbestimmungen

Von den gezielt abgebauten Stärken sowie von den nativen Proben wurde in Mehrfachbestimmungen das Brechungsindexinkrement in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid untersucht. Hierbei ergaben sich die in **Tabelle 5.3.3-1** dargestellten Werte für die einzelnen Proben.

*Tabelle 5.3.3-1 Übersicht über die Brechungsindexinkremente der nativen und enzymatisch abgebauten Wachsmaisstärken mit Angabe der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  aus den SEC-Messungen.*

Probe	$(dn/dc)$ (ml/g)	Abweichung (ml/g)	$M_w$ (g/mol)
native WMS	0,1404	0,0004	1.210.000
1/8/00	0,1339	0,0005	334.000
2/8/00	0,1342	0,0004	397.000
4/8/00	0,1372	0,0003	414.000
8/8/00	0,1400	0,0005	421.000
10/8/00	0,1347	0,0003	154.000
16/8/00	0,1340	0,0002	221.000
18/8/00	0,1345	0,0002	154.000

Geordnet nach den gewichtsmittleren Molmassen  $M_w$  ergibt sich somit **Tabelle 5.3.3-2**.

*Tabelle 5.3.3-2 Brechungsindexinkrement  $(dn/dc)$  in Abhängigkeit der gewichtsmittleren Molmassen  $M_w$  der WMS.*

$M_w$ (g/mol)	Probe	$(dn/dc)$ (ml/g)
2.210.000	native WMS	0,1404
421.000	8/8/00	0,1400
414.000	4/8/00	0,1372
397.000	2/8/00	0,1342
334.000	1/8/00	0,1339
221.000	16/8/00	0,1340
154.000	10/8/00	0,1347
154.000	18/8/00	0,1345

Hier kann man eine leichte Abhängigkeit des Brechungsindexinkrementes ( $dn/dc$ ) von der Molmasse erkennen. Das Brechungsindexinkrement ( $dn/dc$ ) nimmt leicht mit der Molmasse ab. So haben die hochmolekularen nativen Wachsmaisstärken sowie die hochmolekulare Probe 8/8/00 mit  $M_w = 421.000$  g/mol einen Wert von 0,140. Unterhalb von 400.000 g/mol kann man das Brechungsindexinkrement als konstant ansehen. Die Mittelwerte der abgebauten Proben ohne 8/8/00 ergibt einen Mittelwert von ( $dn/dc$ ) = 0,1352 ml/g. In den Bestimmungen mittels SEC/MALLS/RI wurde für die nativen Proben ein Wert von ( $dn/dc$ ) = 0,140 ml/g und für die abgebauten Proben ein Wert von ( $dn/dc$ ) = 0,135 ml/g verwendet.

### 5.3.4 Lagerstabilitätsuntersuchungen

In einer weiteren Studie wurde die Lagerstabilität zweier Proben der abgebauten Wachsmaisstärke in Lösung untersucht. Dafür wurden Proben ausgesucht, die als Ausgangssubstanz für die Acetylstärke (s. Kapitel 5.5 Untersuchungen an Acetylstärke) verwendet wurden und die unterschiedliche gewichtsmittlere Molmassen  $M_w$  aufweisen. Von den Proben 4/8/00 mit 414.000 g/mol und 16/8/00 mit 221.000 g/mol wurden je zwei 6 %ige Lösungen in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natirumazid und je zwei 6 %ige wäßrige Lösungen ohne Zusätze hergestellt. Diese Lösungen wurden über einen Zeitraum von 109 Tagen gelagert und wöchentlich ein Teil der Probenlösung mittels SEC/MALLS/RI vermessen.

In **Tabelle 5.3.4-1** sind die Ergebnisse der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten Probe 4/8/00 dargestellt. Anhand dieser Daten kann man erkennen, daß ein nahezu kontinuierlicher Abbau der Wachsmaisstärke erfolgt. Die Verteilungen bis zu 25 Tagen einschließlich weisen einen bimodalen Verlauf auf. Danach sind sie monomodal. Auffallend sind die Ergebnisse nach 81 Tagen. Die Molmasse ist im Vergleich zu den vorherigen Messungen angestiegen. Die Verteilung der Momasse ist enger als die der anderen. In der kumulativen Molmassenverteilung (**Abbildung 5.3.4-1**) kann man erkennen, daß hauptsächlich die kleinen Molmassen im Vergleich zu den vorhergehenden Messungen fehlen. Die hochmolekularen Molmassen sind gleich. Die Messung 7 Tage später (88 Tage) paßt wieder genau in die vorhergehende Reihe, so daß man davon ausgehen könnte, daß hier ein Meßfehler oder eine Verwechslung der Proben vorliegt. In Messungen der anderen Proben tritt dieses Phänomen, wie später zu sehen sein

wird, aber ebenfalls auf. Die Breite der Molmassenverteilungen nehmen wie die Molmassen selber auch über den Zeitraum der Lagerung ab. Dabei nähern sie sich einer Polydispersität von 2,7. Die Messung nach 81 Tagen stellt auch hier wieder eine Ausnahme dar. Trotz höherer Molmasse zeigt sie eine geringere Polydispersität, die mit einem Wert von 2,2 auch von den kleinsten Proben nicht erreicht wird.

*Tabelle 5.3.4-1 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der Lagerstabilität der Probe 4/8/00 gelagert in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid*

Tag	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
3	90.000	391.000	956.000	4,4	97,3
10	85.000	366.000	911.000	4,3	92,9
18	82.000	345.000	865.000	4,2	93,3
25	81.000	323.000	795.000	4,0	94,0
32	78.000	302.000	737.000	3,9	93,0
39	76.000	275.000	658.000	3,6	92,3
46	73.000	250.000	590.000	3,4	92,2
53	69.000	226.000	529.600	3,3	91,7
60	65.000	207.000	488.000	3,2	90,8
67	63.000	190.000	435.000	3,0	89,7
74	59.000	172.000	392.000	2,9	90,7
81	97.000	216.000	548.000	2,2	84,1
88	56.000	160.000	342.000	2,8	86,9
95	49.000	133.000	272.000	2,7	88,3
102	45.000	125.000	257.000	2,7	88,5
108	43.00	115.000	235.000	2,7	87,4

Das auffällige Verhalten der Probe nach 81 Tagen Lagerung kann in der differentiellen Molmassenverteilung (**Abbildung 5.3.4-2**) sehr gut erkannt werden. Die kumulative Molmassenverteilung (**Abbildung 5.3.4-1**) zeigt im Vergleich zu den anderen Messungen ein Fehlen der niedermolekularen Anteile.

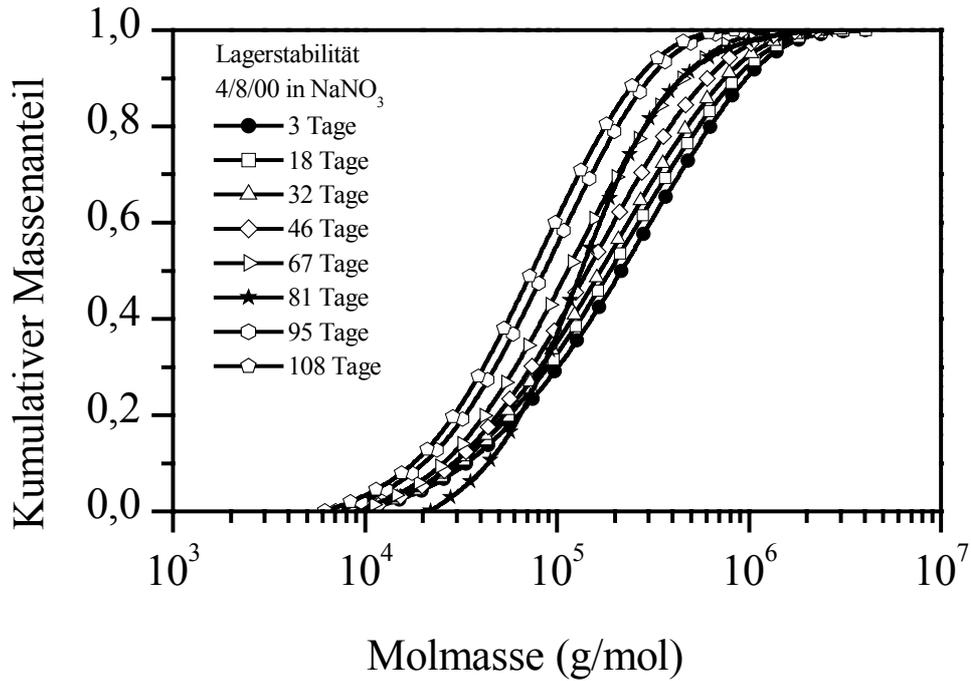


Abbildung 5.3.4-1 Kumulative Molmassenverteilungen der Probe 4/8/00 gelagert in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid in Abhängigkeit der Lagerungsdauer.

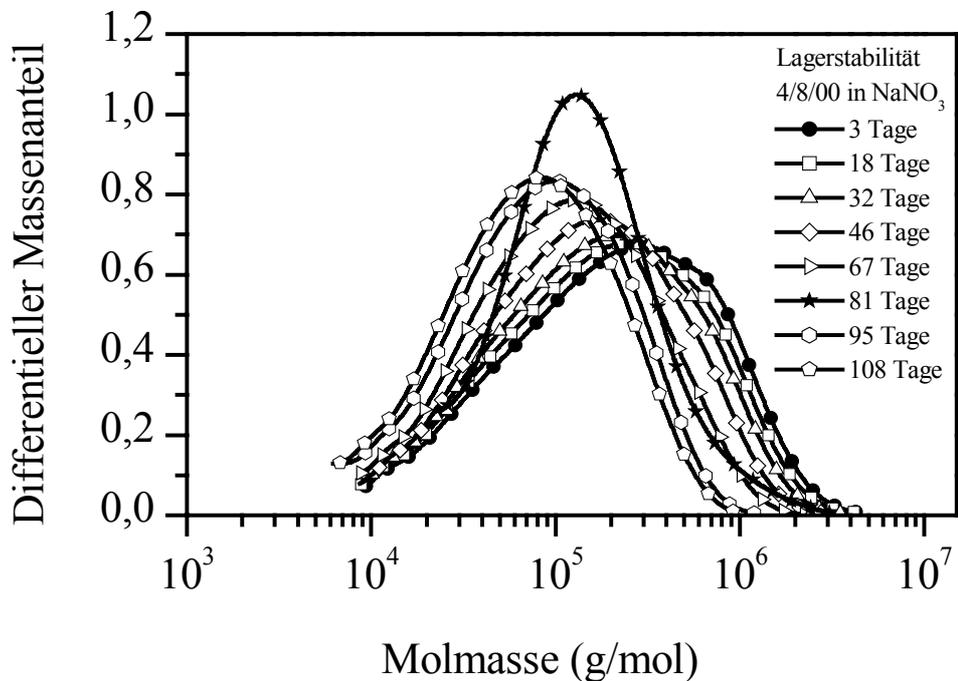


Abbildung 5.3.4-2 Differentielle Molmassenverteilungen der Probe 4/8/00 gelagert in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid in Abhängigkeit der Lagerungsdauer.

In **Tabelle 5.3.4-2** ist das Lagerverhalten der Probe 4/8/00 in Wasser bezüglich der Molmassen zusammengestellt. Auch in dieser Reihe, die sich erwartungsgemäß verhält, tritt bei der Messung nach 81 Tagen das gleiche Phänomen auf wie bei der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten Probe 4/8/00. Die differentielle Molmassenverteilung (**Abbildung 5.3.4-3**) zeigt für die ersten Messungen bis einschließlich 18 Tage bimodales Verhalten, danach liegen monomodale Verläufe der Molmassenverteilungen vor. In der kumulativen Verteilung (**Abbildung 5.3.4-4**) ist das abweichende Verhalten nach 81 Tagen gut zu erkennen, jedoch ist es nicht so ausgeprägt wie bei der wäßrigen Natriumnitratlösung.

*Tabelle 5.3.4-2 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der Probe 4/8/00 gelagert in abgekochtem, bidestilliertem Wasser.*

Tag	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
3	98.000	385.000	934.000	3,9	91,1
10	89.000	342.000	835.000	3,9	91,2
18	77.000	257.000	602.000	3,2	90,6
25	74.000	212.000	470.000	2,9	89,0
32	64.000	170.000	370.000	2,7	90,6
39	58.000	140.000	291.000	2,4	86,6
46	51.000	115.000	238.000	2,3	85,3
53	45.000	109.000	242.000	2,4	82,0
60	37.000	80.000	154.000	2,2	83,7
67	35.000	71.000	130.000	2,0	81,5
74	32.000	63.000	112.000	1,9	79,3
81	41.000	70.000	120.000	1,7	77,8
88	27.000	52.000	102.000	2,0	76,2
95	24.000	44.000	78.000	1,9	73,4
102	22.000	39.000	68.000	1,8	69,8
109	20.000	34.000	60.000	1,7	66,9

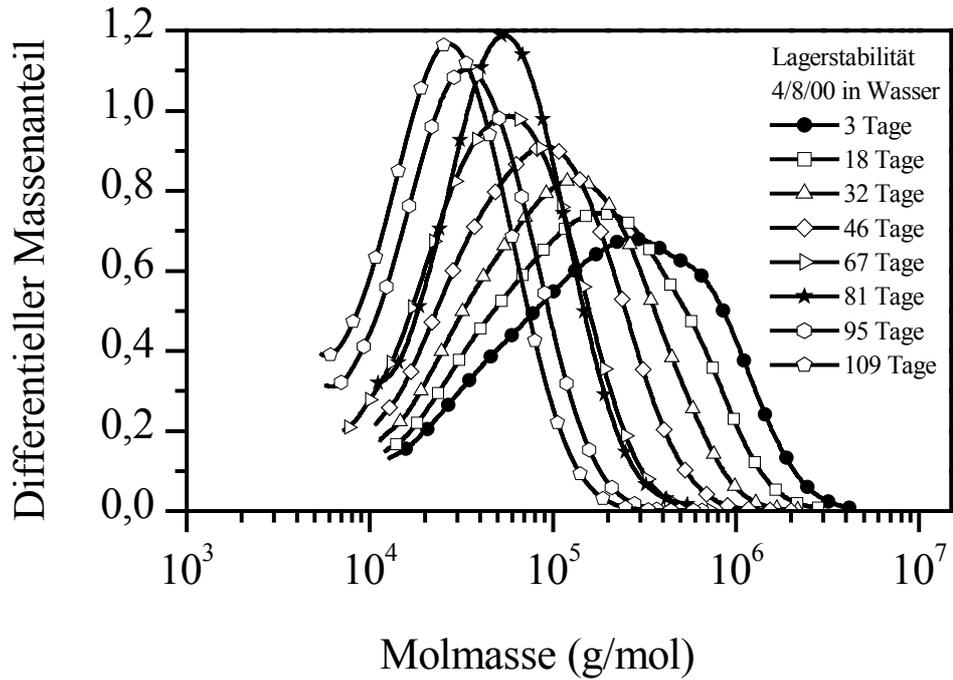


Abbildung 5.3.4-3 Differentielle Molmassenverteilungen der Probe 4/8/00 gelagert in Wasser in Abhängigkeit der Lagerungsdauer.

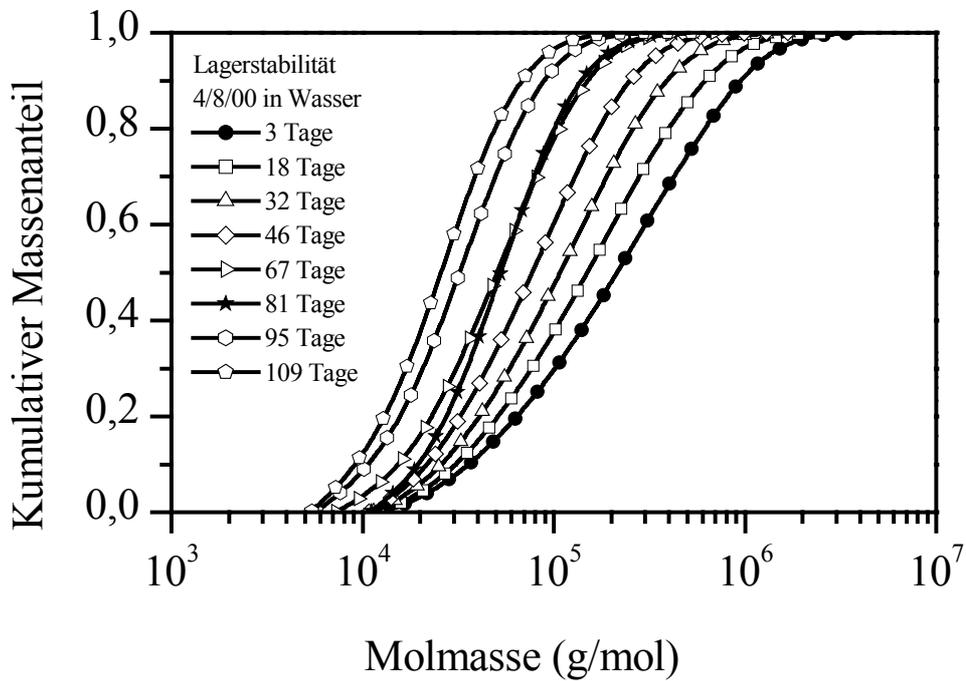
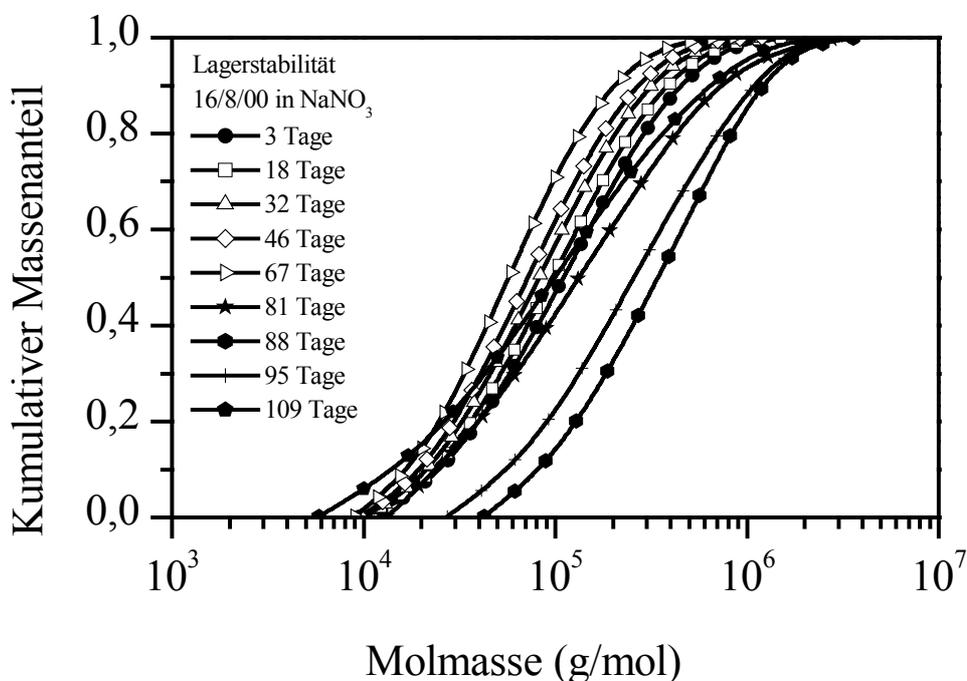


Abbildung 5.3.4-4 Kumulative Molmassenverteilungen der Probe 4/8/00 gelagert in Wasser in Abhängigkeit der Lagerungsdauer.

Das Verhalten bezüglich der Lagerungszeit der niedermolekularen Probe 16/8/00 ist in **Tabelle 5.3.4-3** zusammengefaßt. Bis zu 60 Tagen einschließlich verläuft das Lagerverhalten wie erwartet mit einem leichten Abbau der Molmassen. Alle Verteilungen zeigen bis hierhin einen monomodalen Verlauf auf. Nach 67 Tagen ist in der kumulativen Molmassenverteilung (**Abbildung 5.3.4-5**) zu sehen, daß eine größere Menge von hochmolekularen Anteilen vorhanden ist. Nach 81 Tagen tritt ein massiver Sprung auf. Die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  ist um 56 % höher als die der Ausgangsprobe nach 3 Tagen. Die differentielle Darstellung der Molmassenverteilung (**Abbildung 5.3.4-6**) zeigt für diese Probe Trimodalität. Nach 88 Tagen wird eine noch höhere Molmasse erhalten. Die gewichtsmittlere Molmasse liegt 180 % höher als die der Ausgangsprobe. Die differentielle Molmassenverteilung zeigt einen bimodalen Verlauf. Im Vergleich zu der Probe nach 81 Tagen sieht man in der kumulativen Molmassenverteilung, daß hier die niedermolekularen Anteile fehlen. Die darauf folgenden Proben verhalten sich wie ein Abbau der Probe nach 88 Tagen. Ihr Verhalten hinsichtlich der Molmassenverteilung nimmt jedoch wieder einen monomodalen Verlauf an. Bis zu 81 Tagen Lagerungsdauer sinkt die Polydispersität kontinuierlich. Nach dem sprunghaften Ansteigen der Molmasse nach 81 Tagen ist diesbezüglich kein konstantes Verhalten mehr festzustellen.



*Abbildung 5.3.4-5 Kumulative Molmassenverteilungen der Probe 16/8/00 gelagert in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid in Abhängigkeit der Lagerungsdauer.*

*Tabelle 5.3.4-3 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der Probe 16/8/00 gelagert in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.*

Tag	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
3	62.000	190.000	453.000	3,1	92,4
10	59.000	174.000	404.000	3,0	91,8
18	56.000	161.000	374.000	2,9	89,8
25	54.000	150.000	352.000	2,8	88,6
32	52.000	137.000	312.000	2,7	86,6
39	49.000	128.000	290.000	2,6	87,5
46	47.000	118.000	264.000	2,5	83,4
53	43.000	107.000	240.000	2,5	82,7
60	39.000	83.000	168.000	2,1	93,0
67	39.000	91.000	196.000	2,3	80,1
74	38.000	85.000	180.000	2,2	79,5
81	68.000	297.000	928.000	4,4	92,0
88	206.000	534.000	1.096.000	2,6	78,0
95	145.000	448.000	1.019.000	3,1	72,3
102	80.600	354.900	985.900	4,4	74,9
109	41.000	244.000	809.000	5,9	72,7

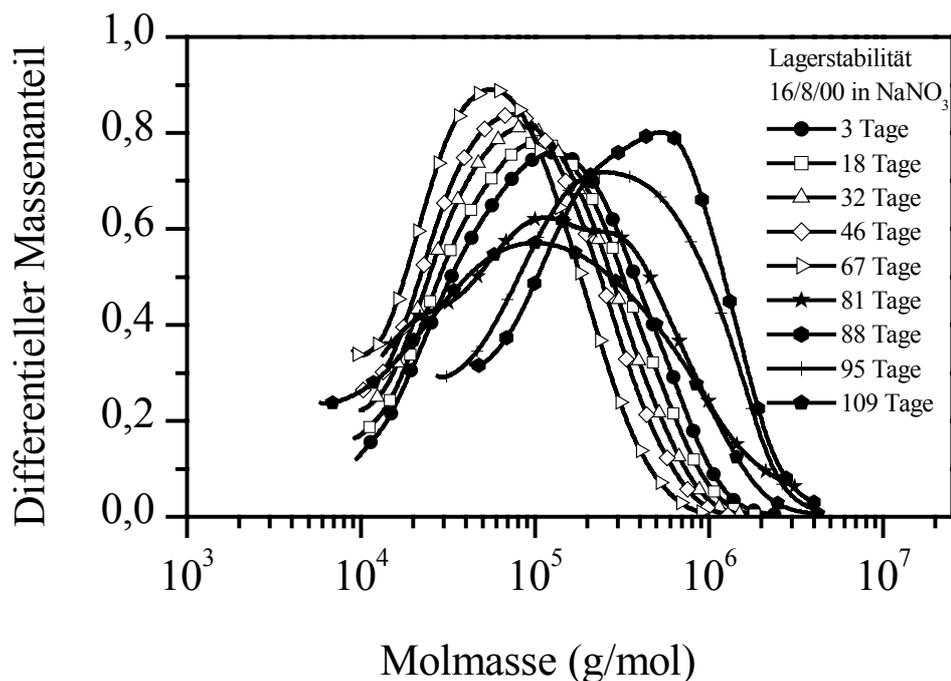


Abbildung 5.3.4-6 Differentielle Molmassenverteilungen der Probe 16/8/00 gelagert in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid in Abhängigkeit der Lagerungsdauer.

Das Verhalten der Probe 16/8/00 in Wasser ist bis zum 74.sten Tag hinsichtlich der Lagerstabilität erwartungsgemäß. Die Messergebnisse sind in **Tabelle 5.3.4-4** dargestellt. Die differentiellen Molmassenverteilungen (**Abbildung 5.3.4-7**) zeigen einen monomodalen Verlauf. Nach 81 Tagen tritt auch hier ein Sprung in der Molmasse auf. Die gewichtsmittlere Molmasse liegt um 36 % über dem Wert der Ausgangsmolmasse. Die Verteilung ist breiter und es liegt ein deutlicher Anteil an hochmolekularen Bestandteilen vor. Die nachfolgenden Messungen zeigen ein Verhalten, wie es sich durch den Abbau einer neu gebildeten Substanz mit einer Ausgangsmolmasse der Messung vom 81. Tag der Lagerung erklären ließe. Hier nehmen im Gegensatz zu der in 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe 16/8/00 die Polydispersitäten kontinuierlich mit der Molmasse ab. Die kumulative Molmassenverteilung (**Abbildung 5.3.4-8**) läßt erkennen, daß nach 81 Tagen Lagerung der Anteil hochmolekularer Bestandteile der Probe sogar höher liegt als der der Ausgangsproben.

*Tabelle 5.3.4-4 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der Probe 16/8/00 gelagert in abgekochtem, bidestilliertem Wasser.*

Tag	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
3	64.000	200.000	478.000	3,1	92,6
10	61.000	185.000	436.000	3,1	92,1
18	58.000	171.000	396.000	3,0	81,3
25	55.000	153.000	349.000	2,8	89,9
32	50.000	124.000	275.000	2,5	88,1
39	48.000	119.000	258.000	2,5	86,9
46	44.000	105.000	226.900	2,4	85,7
53	41.000	93.000	195.000	2,3	84,5
60	40.000	98.000	219.000	2,5	72,8
67	36.000	75.000	146.000	2,1	80,9
74	34.200	68.000	130.000	2,0	79,4
81	64.000	272.000	1.080.000	4,3	81,1
88	34.000	92.000	216.400	2,7	76,2
95	28.000	71.000	160.000	2,5	75,6
102	27.000	57.000	111.000	2,1	73,2
109	25.000	49.000	93.000	2,0	70,8

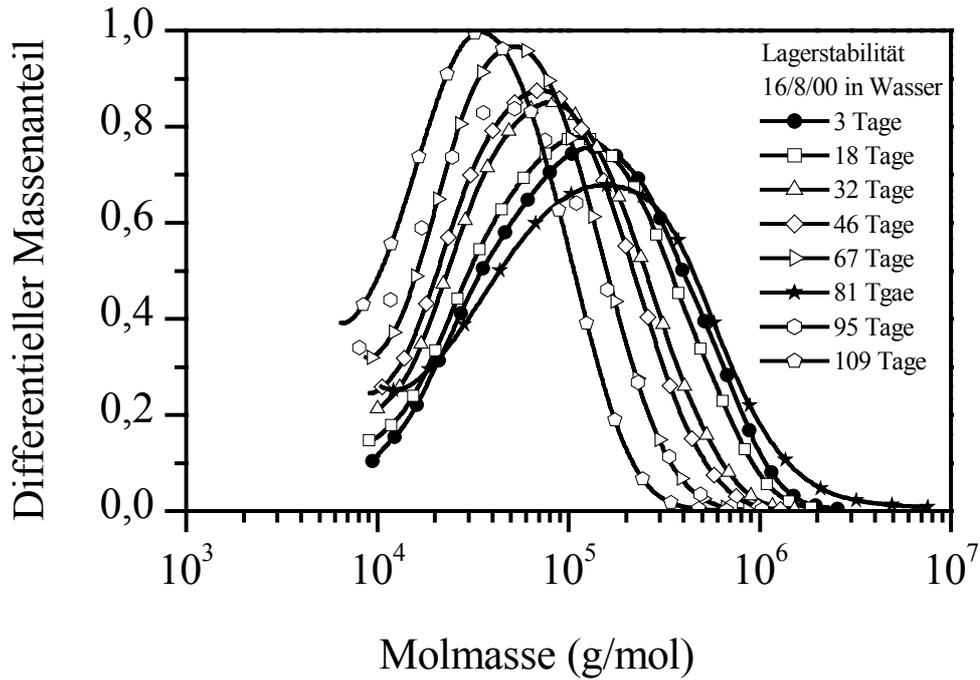


Abbildung 5.3.4-7 Differentielle Molmassenverteilungen der Probe 16/8/00 gelagert in Wasser in Abhängigkeit der Lagerungsdauer.

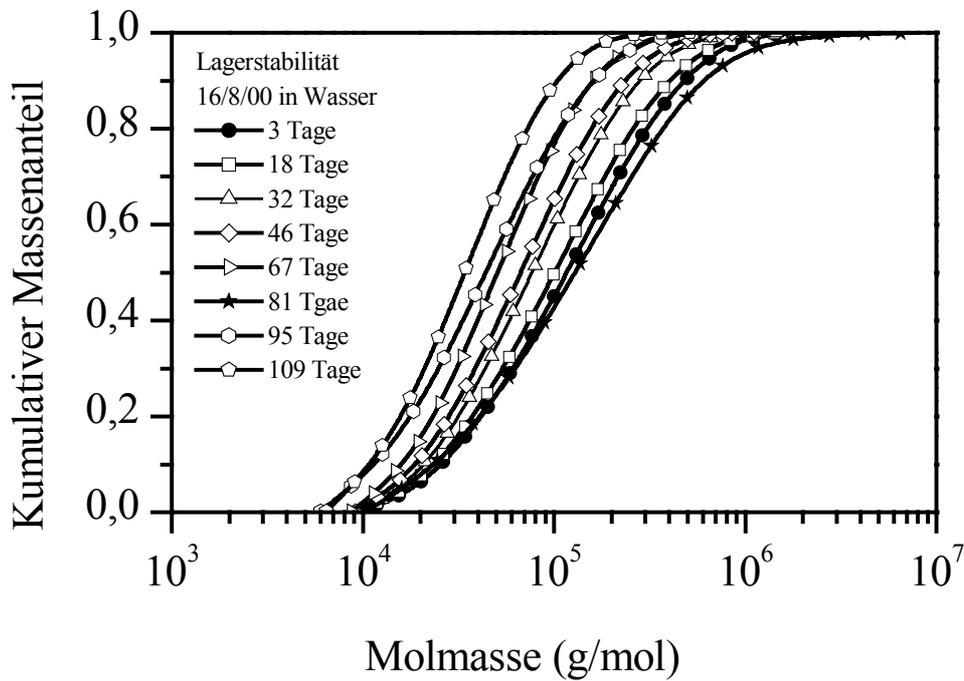
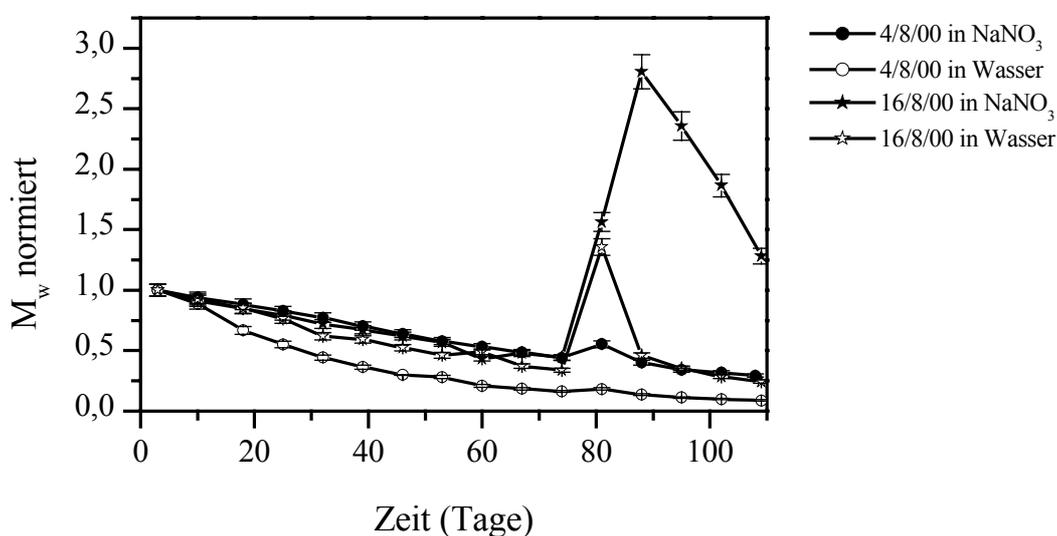


Abbildung 5.3.4-8 Kumulative Molmassenverteilungen der Probe 16/8/00 gelagert in Wasser in Abhängigkeit der Lagerungsdauer.

In **Abbildung 5.3.4-9** ist die auf die jeweilige Ausgangsmolmasse normierte Molmasse der gelagerten Proben gegen die Lagerungsdauer aufgetragen. Wie in **Abbildung 5.3.4-10**, der Ausschnittsvergrößerung aus **Abbildung 5.3.4-9**, im Zeitraum bis zu 75 Tagen dargestellt ist, nimmt für alle Proben die Molmasse zunächst nahezu linear ab. Dabei hat die Probe mit der höchsten Molmasse 4/8/00, die in reinem Wasser gelagert wurde, den schnellsten Abbau aufzuweisen. Insgesamt gesehen bauen die in reinem Wasser gelagerten Proben erwartungsgemäß aufgrund nicht vorhandenen Azids schneller ab als die in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten. Zwischen den in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten Proben ist bis zu einer Lagerungsdauer von 75 Tagen kein signifikanter Unterschied zu erkennen. Besonders auffällig ist das Verhalten der Probe 16/8/00 in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid nach 75 Tagen Lagerung. Hier steigt die Molmasse signifikant an und erreicht auch nach weiterer Lagerung nicht wieder den Wert der Ausgangsprobe. Alle anderen Proben zeigen nach der gleichen Lagerungsdauer diesen Trend, jedoch nicht derartig ausgeprägt. Hier werden auch wieder kleinere Molmassen als die der Ausgangsmolmasse erreicht.



*Abbildung 5.3.4-9 Auftragung der normierten Molmasse gegen die Lagerungsdauer der Proben 4/8/00 und 16/8/00 sowohl in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid als auch in Wasser gelagert über den gesamten Zeitraum der Lagerung.*

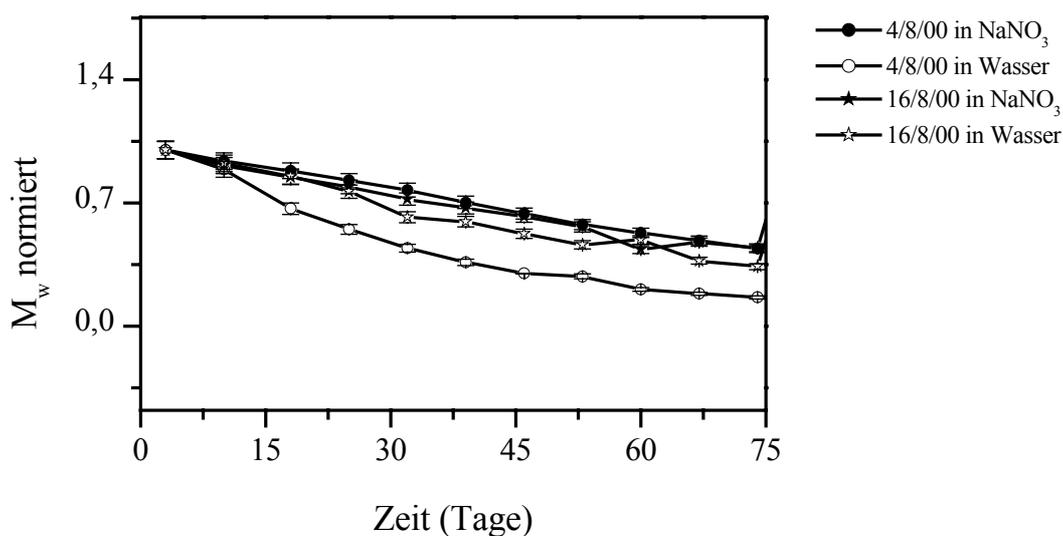


Abbildung 5.3.4-10 Auftragung der normierten Molmasse gegen die Lagerungsdauer der Proben 4/8/00 und 16/8/00 sowohl in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid als auch in Wasser gelagert bis 74 Tage Lagerungsdauer.

Parallel zu den SEC/MALLS/RI-Messungen wurden von der Probe 16/8/00 zusätzlich <sup>13</sup>C-NMR-Spektren in D<sub>2</sub>O je einmal im Monat über vier Monate aufgenommen. Hierzu wurde die Probe in deuteriertem Wasser gelöst und gelagert.

Abbildung 5.3.4-11 zeigt die erste Messung des <sup>13</sup>C-NMR-Spektrums der Probe 16/8/00 in einem Bereich von –5 bis 105 ppm. Die Abbildung 5.3.4-12 zeigt alle vier Spektren der Probe über den Bereich 55 bis 105 ppm.

In Tabelle 5.3.4-5 sind die erhaltenen Verschiebungen der Messungen über vier Monate mit Zuordnung zum zugehörigen C-Atom aufgeführt. Anhand dieser Messungen sind keine Unterschiede zwischen den Spektren nach unterschiedlicher Lagerungsdauer festzustellen. Somit sind ansteigenden Molmassen der Proben nach 81 Tagen Lagerungszeit wahrscheinlich auf Aggregat/Assoziatbildung zurückzuführen. Eine chemische Veränderung der Struktur findet offensichtlich nicht statt.

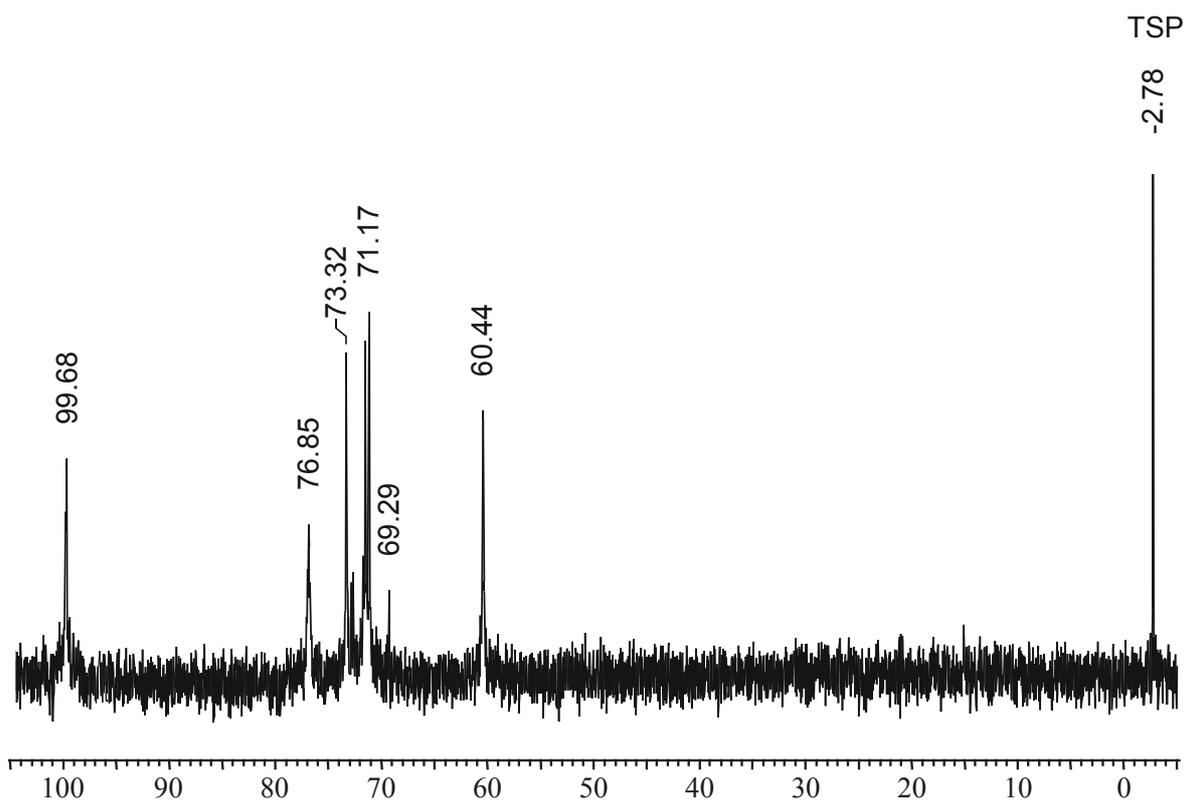


Abbildung 5.3.4-11  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum der Probe 16/8/00 in  $\text{D}_2\text{O}$  zu Beginn der Lagerung.

Tabelle 5.3.4-5 Lage der Peaks des  $^{13}\text{C}$ -NMRs der Probe 16/8/00 in  $\text{D}_2\text{O}$  und die Zuordnung der dazugehörigen C-Atome der jeweiligen Messung.

Messung	Lage des Peaks in ppm	Zuordnung zu C-Atom
1	60,44	C-6
	69,29 – 76,85	C-2, C-3, C-4, C-5
	99,68	C-1
2	60,38	C-6
	69,29 – 76,87	C-2, C-3, C-4, C-5
	99,68	C-1
3	60,38	C-6
	69,29 - 76,85	C-2, C-3, C-4, C-5
	99,68	C-1
4	60,45	C-6
	69,30 - 76,93	C-2, C-3, C-4, C-5
	99,68	C-1

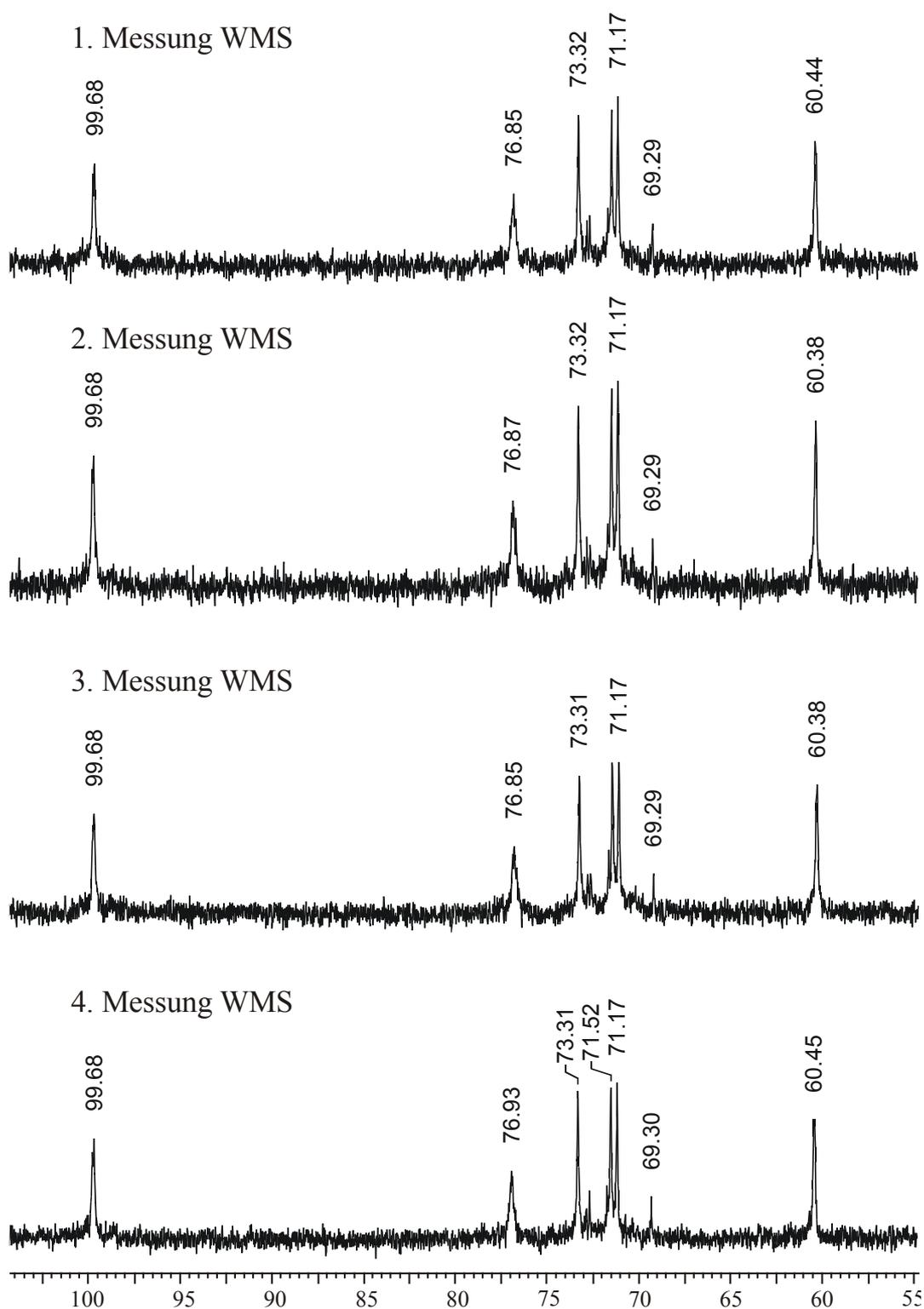


Abbildung 5.3.4-12  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren der Probe 16/8/00 gelagert in  $\text{D}_2\text{O}$ . Die Messungen erfolgten jeweils im Abstand von einem Monat.

## 5.4 Untersuchungen an Hydroxyethylstärke

Hydroxyethylstärke (HES) ist ein Ether-Derivat der Stärke. Eine Beschreibung der chemischen Zusammensetzung und der Anwendungsgebiete von HES findet sich in Kapitel 2.4.1 Hydroxyethylstärke.

Die aus amylopektin-reicher Stärke hergestellte HES wird heutzutage in der Medizin als Blutplasmaersatzmittel (s. hierzu Kapitel 3.1 Hydroxyethylstärke als Blutplasmaersatzmittel) eingesetzt. Hierbei wird die Pharmakokinetik durch die Molmasse und deren Verteilung, sowie den Substitutionsgrad und das -muster beeinflusst. Die in der Medizin eingesetzten HES-Präparate werden bezüglich ihrer Molmasse und ihres Substitutionsgrades benannt. So hat beispielsweise eine als „HES 200/0,5“ bezeichnete Hydroxyethylstärke eine gewichtsmittlere Molmasse von 200.000 g/mol bei einem Substitutionsgrad von 0,5. Dabei wird jedoch weder auf die Verteilungsbreite noch auf das Substitutionsmuster eingegangen. Gerade diese Verteilung ist jedoch essentiell für das Verhalten der HES hinsichtlich der Verweildauer und des Volumeneffektes.

Für Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit standen mehrere HES Proben zur Verfügung. Hierbei handelte es sich zum einen um kommerzielle Proben, die Einsatz in klinischen Verwendungen finden und zum anderen um HES-Probensätze, die in Zusammenarbeit mit dem Arbeitskreis Prof. Dr. Wolf, Universität Mainz, untersucht wurden. Diese Proben wurden mittels kontinuierlicher Polymerfraktionierung (CPF, continuous polymer fractionation) getrennt. Hierbei sollten die Untersuchung der absoluten Molmasse und deren Verteilung sowie des Trägheitsradius, sofern möglich, Aufschluß über das Trennvermögen der CPF geben.

### 5.4.1 Untersuchungen an kommerziellen Proben

Als kommerzielle Produkte standen zwei HES-Proben mit einer nominellen Molmasse von 200.000 g/mol und einem Substitutionsgrad von 0,5 zur Verfügung. Hierbei handelte es sich um die Probe HES 200/0,5 des Allgemeinen Krankenhauses Barmbek (Hamburg) und um die Probe HES 1025 der Firma Pfeifer und Langen (Dormagen). Die Proben werden im folgenden mit HES AK B für HES 200/0,5 AK Barmbek und HES P + L 1025 für die Probe der Firma Pfeifer und Langen abgekürzt.

Anhand der kommerziellen Proben wurden Untersuchungen hinsichtlich des Brechungsindexinkrementes und der Molmassenverteilung mittels SEC/MALLS/RI durchgeführt. Von beiden Proben wurden Lagerstabilitätsuntersuchungen über einen Zeitraum von 109 Tagen angefertigt. Von Probe HES AK B wurden darüber hinausgehende Untersuchungen mittels Lichtstreuungsmessungen ohne vorherige Fraktionierung sowie Fluß Feld-Fluß Fraktionierung an der symmetrischen Anlage sFFFF/MALLS/RI durchgeführt. Hierdurch sollte die Leistungs- und Vergleichsfähigkeit dieser Methoden auch in Hinsicht auf andere Proben wie beispielsweise der Hydroxypropylstärke (s. Kapitel 5.6 Untersuchungen an Hydroxypropylstärke) überprüft werden.

### Bestimmung des Brechungsindexinkrementes

Das Verhalten des Brechungsindexinkrementes ( $dn/dc$ ) war unabhängig von der untersuchten Probe. In **Tabelle 5.4.1-1** sind die Ergebnisse der einzelnen Messungen aufgeführt.

*Tabelle 5.4.1-1 ( $dn/dc$ )-Werte der kommerziellen HES-Proben HES AK B und HES P + L 1025.*

Probe	$(dn/dc)$ (ml/g)	$(dn/dc)$ (ml/g)	Mittelwert $(dn/dc)$
	[1. Messung]	[2. Messung]	(ml/g)
HES AK B	0,1394	0,1396	0,1395
HES P + L 1025	0,1399	0,1391	0,1395

Hieraus ergibt sich ein Mittelwert von 0,1395 ml/g mit einer Standardabweichung von 0,0003 ml/g. Im folgenden wurde mit einem Brechungsindexinkrement von 0,140 ml/g gearbeitet.

### Bestimmung der Molmasse und deren Verteilung mittels SEC/MALLS/RI

Die SEC/MALLS/RI-Messungen an diesen Proben in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid ergaben die in **Tabelle 5.4.1-2** zusammengefaßten Werte für die kommerziellen HES-Proben. Die Probe HES AK B trifft die Qualifizierung von hinsichtlich 200.000 g/mol genau, wohingegen die Probe HES P + L 1025 leicht unter dem nominellen Wert der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  liegt. Diese Probe zeigt auch eine leicht breitere Verteilung als die Probe HES AK B.

Tabelle 5.4.1-2 SEC/MALLS/RI-Ergebnisse der kommerziellen HES Proben in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

Probe	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
HES AK B	84.000	198.000	399.000	2,4	93,9
HES P + L 1025	68.000	170.000	359.000	2,5	95,8

Abbildung 5.4.1-1 zeigt den Elutionsverlauf der Molmasse gegen das Volumen. Das Diagramm ist mit den Konzentrations- und Streulichtsignalen hinterlegt. Im Streulichtsignal der Probe HES P + L 1025 ist zu niedrigen Elutionsvolumina ein kleiner Peak zu erkennen. Dieser geht aufgrund des fehlenden Konzentrationssignals nicht in die Auswertung mit ein. In der Darstellung der kumulativen Molmasse (Abbildung 5.4.1-2) erkennt man, daß in dieser Probe mehr niedermolekulare Anteile enthalten sind als in der Vergleichsprobe HES AK B.

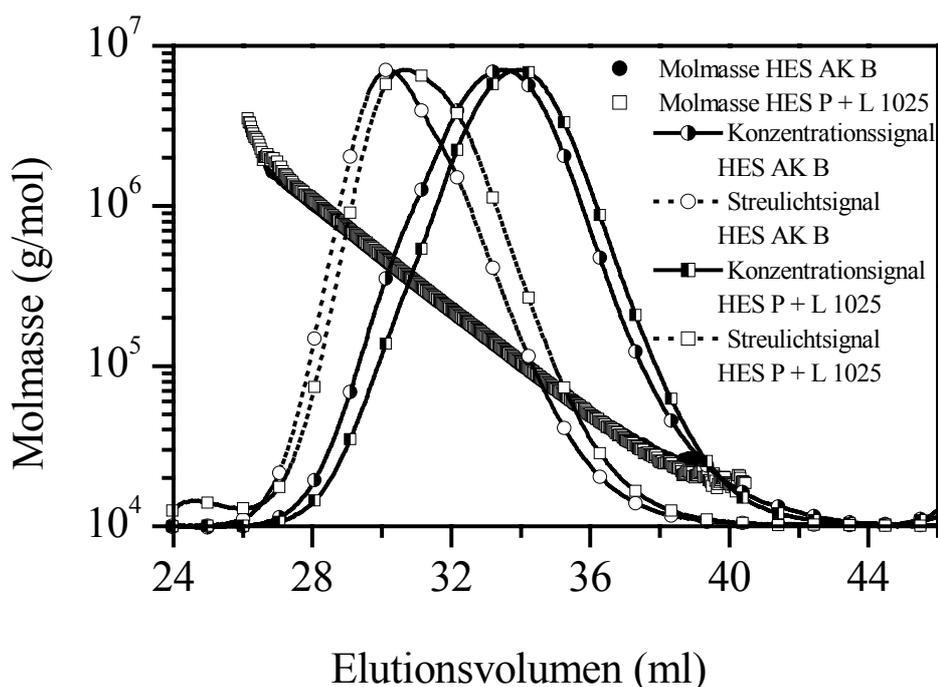


Abbildung 5.4.1-1 Elutionsdiagramm der Molmasse gegen das Elutionsvolumen der kommerziellen Proben HES AK B und HES P + L 1025 aus SEC/MALLS/RI-Messungen. Hinterlegt ist das Diagramm mit den Konzentrations- (halb-gefüllte Symbole mit durchgezogener Linie) und den Streulichtsignalen (offene Symbole mit gepunkteter Linie).

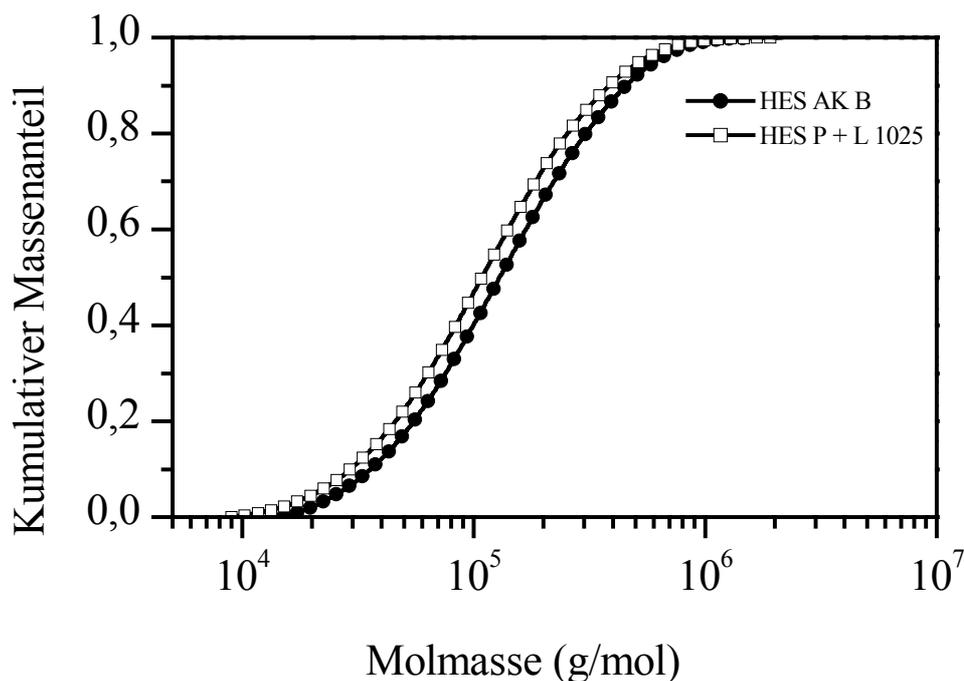


Abbildung 5.4.1-2 Kumulative Molmassenverteilungen der kommerziellen HES Proben HES AK B und HES P + L 1025.

### Reine Streulichtuntersuchungen

An der Probe HES AK B wurde über Konzentrationsreihen Zimm-Diagramme mit Hilfe der Lichtstreuung erstellt. Die Messungen an der unfraktionierten Probe ergaben eine gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  von 210.000 g/mol und einen Trägheitsradius  $R_{G_z}$  von 25 nm. Diese Ergebnisse wurden in sehr guter Übereinstimmung der einzelnen Messungen ermittelt. So beträgt die Abweichung der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  1.300 g/mol, was 0,6 % entspricht. Die Abweichungen bei der Bestimmung des Trägheitsradius  $R_{G_z}$  betragen 0,5 nm, was in etwa 2 % ausmacht. Die Bestimmung des zweiten Virialkoeffizienten  $A_2$  ergab hingegen starke Unterschiede bei den einzelnen Messungen. Da diese Werte aber im Bereich von  $10^{-4}$  bzw.  $10^{-5}$  mol ml/g<sup>2</sup> liegen, können sie als vernachlässigbar klein angesehen werden und der 2.Terms der allgemeinen Streulichtgleichung kann somit zu null angenommen werden. In **Abbildung 5.4.1-3** ist ein Zimm-Diagramm der Probe HES AK B dargestellt.

Die Abweichung der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  von 210.000 g/mol zu der aus den SEC/MALLS/RI-Messungen erhaltenen von 198.000 g/mol beträgt 6 %. Da hier völlig verschiedene Bestimmungsmethoden vorliegen und die Probe im Falle der Ermittlung der

Molmasse mittels Zimm-Diagramm auch nicht fraktioniert wurde, kann man von einer sehr guten Übereinstimmung sprechen.

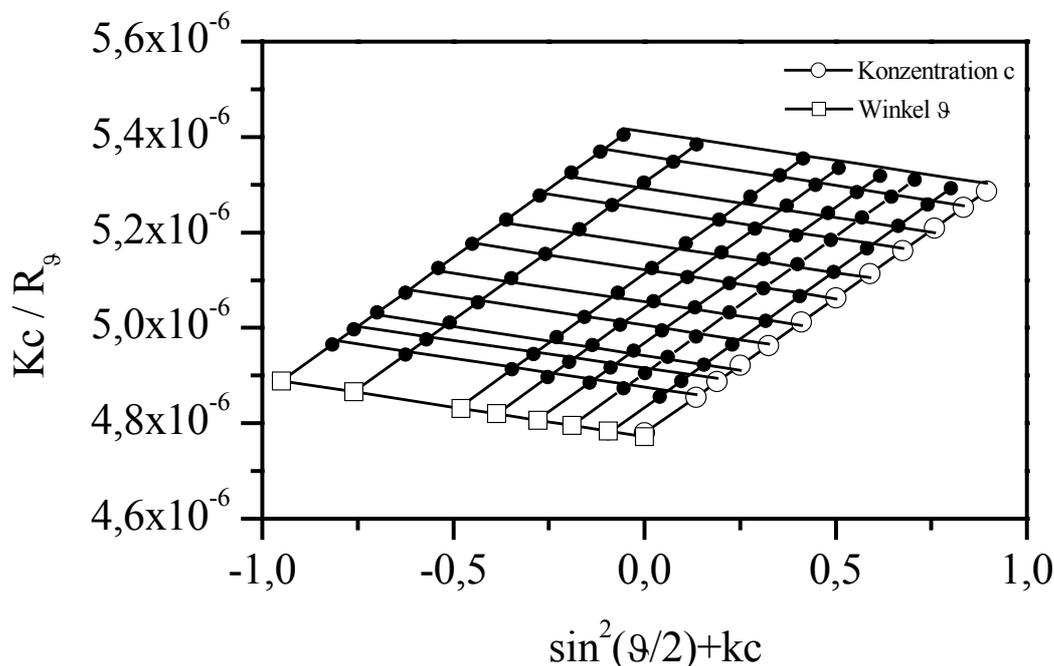


Abbildung 5.4.1-3 Zimm-Diagramm der Probe HES AK B mit den extrapolierten Werten für Winkel  $\vartheta$  und Konzentration  $c$  gegen null.

### sFFFF/MALLS/RI-Messungen

An der Probe HES AK B wurden Molmasse und deren Verteilung auf der kombinierten Anlage sFFFF/MALLS/RI bestimmt. Hierbei wurden zur Einstellung optimaler Trennbedingungen drei unterschiedliche Flußbedingungen gewählt. Der Kanalfuß betrug konstant 0,467 ml/min, während der Querfluß dreimal variiert wurde: a) ein konstanter Querfluß von 1 ml/min und b) von 1,5 ml/min sowie c) ein Querfluß mit Gradient von 2 auf 1 ml/min innerhalb von 120 Minuten gewählt. In **Tabelle 5.4.1-3** sind die Ergebnisse dieser Messungen aufgeführt.

Der Wert der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  stimmt gut mit denen aus der SEC und den mittels Lichtstreuung ohne vorherige Fraktionierung erhaltenen überein. Die Diskrepanz zwischen dem Zahlenmittel  $M_n$  aus den SEC und sFFFF-Messungen ist jedoch erheblich. Man kann anhand der Ergebnisse der Messungen bei unterschiedlichen Querflußbedingungen dessen Einfluß von diesen auf die Fraktionierung erkennen. Je schwächer der Querfluß ist, desto schlechter werden die niedermolekularen Bestandteile der Probe abge-

trennt. Weiterhin ist bei konstantem Querfluß die Abtrennung der hochmolekularen Bestandteile nicht befriedigend. Hier bringt ein Querfluß mit Gradient eine deutliche Verbesserung. Anhand dieser relativ einfachen Probe ist die Problematik der Einstellung der richtigen Parameter bei der Fluß Feld-Fluß Fraktionierung gut zu erkennen. In **Abbildung 5.4.1-4** ist der Verlauf der Molmasse gegen das Elutionsvolumen der Messung bei konstantem Querfluß mit 1 ml/min dargestellt. Hinterlegt ist das Diagramm mit dem Konzentrations- und Streulichtsignal. **Abbildung 5.4.1-5** zeigt den Vergleich der kumulativen Molmassenverteilungen, wie sie aus SEC/MALLS/RI und aus derselben sFFFF/MALLS/RI-Messung erhalten werden.

*Tabelle 5.4.1-3 Ergebnisse der sFFFF/MALLS/RI-Messungen der Probe HES AK B unter verschiedenen Querflußbedingungen.*

Querflußbedingungen	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
1 ml/min	125.000	205.000	322.000	1,7	99,7
1,5 ml/min	114.000	190.000	299.000	1,7	98,9
2 – 1 ml/min/120 min	112.000	227.000	398.000	2,0	99,2
Mittelwert	117.000	207.000	340.000	1,8	99,3

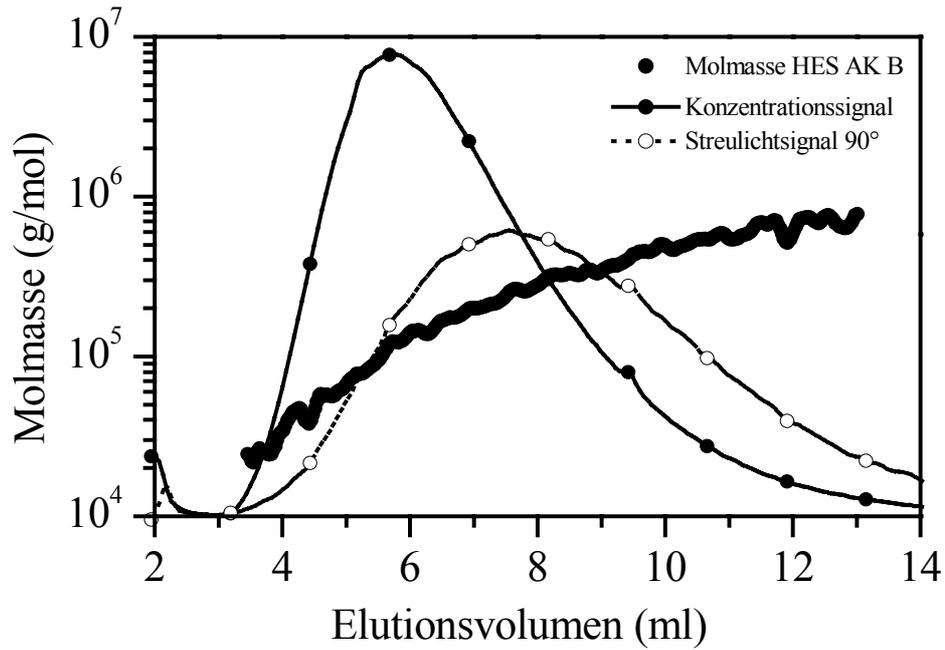


Abbildung 5.4.1-4 Verlauf der Molmasse gegen das Elutionsvolumen der sFFFF-Messung von HES AK B. Hinterlegt ist die Graphik mit dem Verlauf des Konzentrationssignals (durchgezogene Linie mit geschlossenen Symbolen) und dem Streulichtsignal (gepunktete Linie mit offenen Symbolen). (Bedg.:  $\dot{V}_x = 0,467\text{ ml/min}$ ,  $\dot{V}_z = 1\text{ ml/min}$ .)

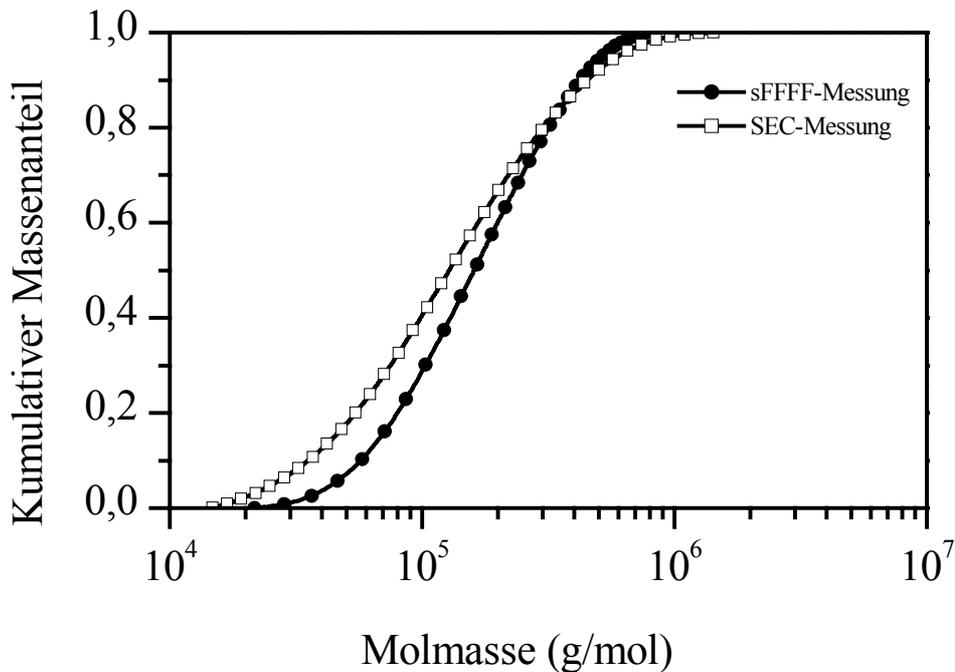


Abbildung 5.4.1-5 Kumulativer Molmassenverlauf der HES AK B der sFFFF-Messung (geschlossene Symbole) und der SEC-Messung (offene Symbole).

### Lagerstabilitätsuntersuchungen

Die Proben HES AK B und HES P + L 1025 wurden hinsichtlich ihrer Lagerstabilität in Lösung überprüft. Hierzu wurden von jeder Probe je zwei Lösungen in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid und je zwei Lösungen in Wasser ohne Zusätze angesetzt. Die Lösungen wurden einmal wöchentlich mittels SEC/MALLS/RI vermessen.

Von der Probe HES 1025 P + L wurden des Weiteren noch einmal monatlich viskosimetrische Messungen der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Lösungen durchgeführt, um das Verhalten bezüglich des Staudinger-Indizes  $[\eta]$  zu untersuchen.

Von der Probe HES AK B wurden einmal monatlich  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren aufgenommen, um eventuelle Änderungen hinsichtlich der Substitution feststellen zu können. Hierzu wurde die Probe in  $\text{D}_2\text{O}$  gelöst und mit TSP als internem Standard vermessen.

Das Verhalten der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten Probe HES P + L 1025 ist in **Tabelle 5.4.1-4** in Abhängigkeit der Lagerungsdauer aufgeführt. Diese Werte zeigen, dass sich diese Hydroxyethylstärke in Lösung über einen Zeitraum von 108 Tagen als stabil hinsichtlich ihrer Molmassen erweist. Die größten Abweichungen sind erwartungsgemäß bezüglich der zahlenmittleren Molmassen  $M_n$  zu verzeichnen, da auf dieses Mittel besonders die kleinen Molmassen Einfluß haben, welche mit dem größten Fehler bestimmt werden. Dennoch sind die Werte, die über alle Messungen die nachfolgend aufgeführten Mittelwerte ergeben, innerhalb der Fehlertoleranzen als sehr gut zu bewerten. Aus allen Messungen ergibt sich eine zahlenmittlere Molmasse  $M_n$  von  $(71.800 \pm 500)$  g/mol, was einer prozentualen Abweichung von 0,7 % entspricht, eine gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  von  $(172.000 \pm 800)$  g/mol, was einer prozentualen Abweichung von 0,5 % entspricht, und eine z-statistische Molmasse  $M_z$  von  $(356.500 \pm 1.700)$  g/mol, was ebenfalls eine Abweichung von 0,5 % ausmacht. Die Polydispersität  $M_w/M_n$  mittelt sich zu  $2,5 \pm 0,13$ .

Alle Messungen zeigen einen monomodalen Verlauf hinsichtlich des Konzentrationssignals. Das Streulichtsignal weist zur hochmolekularen Flanke einen Peak sehr geringer Intensität auf, wobei hier keine Konzentration zu ermitteln ist, so daß dieser Peak nicht in die Auswertung mit einbezogen wurde. Ein typischer Verlauf der Molmasse gegen das Elutionsvolumen wurde vorhergehend in **Abbildung 5.4.1-1** dargestellt. Die Auftragung

der kumulativen Molmasse (**Abbildung 5.4.1-6**) der Ausgangsprobe und der Probe nach 108 Tagen Lagerung zeigt nochmals deutlich, das sich hinsichtlich der Molmassen und Molmassenverteilungen in dieser Zeit keine Änderungen ergeben haben.

*Tabelle 5.4.1-4 Molmassen sowie Polydispersitäten der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten Probe HES P + L 1025 in Abhängigkeit der Lagerungsdauer.*

Lagerdauer (Tage)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
3	68.000	170.000	357.000	2,5	95,8
10	69.000	171.000	363.000	2,5	97,2
18	70.000	172.000	360.000	2,4	97,8
24	70.000	172.000	361.000	2,5	97,5
32	72.000	173.000	357.000	2,4	97,5
39	72.000	172.000	356.000	2,4	98,4
45	70.000	173.000	361.000	2,5	98,3
52	69.000	171.000	354.000	2,5	98,3
60	75.000	173.000	355.000	2,3	96,7
66	75.000	174.000	357.000	2,3	97,3
73	72.000	172.000	353.000	2,4	98,5
81	72.000	173.000	356.000	2,4	97,4
87	72.000	172.000	354.000	2,4	97,6
94	71.000	167.000	351.000	2,4	99,3
101	73.000	172.000	355.000	2,4	99,5
108	76.000	173.000	353.000	2,3	98,2

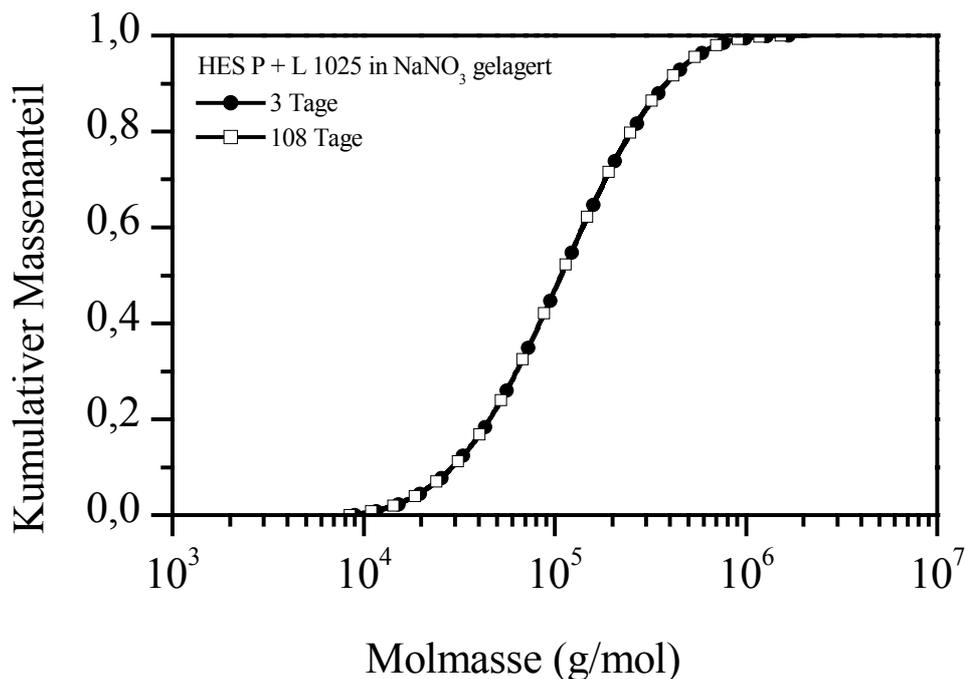


Abbildung 5.4.1-6 Kumulative Molmassenverteilungen der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten Probe HES P + L 1025 nach drei und 108 Tagen Lagerungsdauer.

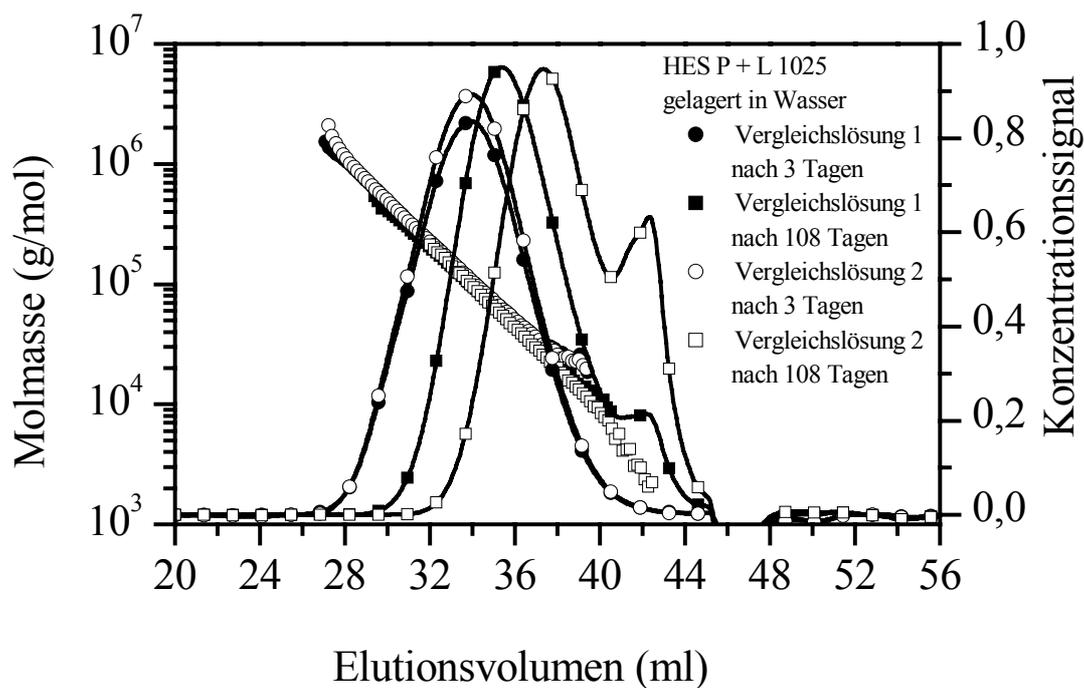
Das Verhalten der in reinem Wasser gelagerten Probe HES P + L 1025 erweist sich hingegen als nicht stabil. Bei den beiden Vergleichslösungen, deren Molmasse im Verlauf der Lagerzeit abnimmt, ist schon nach 10 Tagen Lagerung ein abweichendes Verhalten zu erkennen. Die Abnahme der Molmasse verläuft für die beiden Vergleichsproben unterschiedlich schnell. In **Tabelle 5.4.1-5** sind die Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der Probe HES P + L 1025 bezüglich der Lagerungsdauer in Wasser aufgeführt. Hierbei sind die Ergebnisse der ersten Vergleichslösung grau unterlegt. Die Ausgangsproben weisen gleiche Molmassen auf, wogegen die Werte der nachfolgenden Messungen große Unterschiede aufzeigen. Dies macht deutlich, daß es bei der Lagerung der Stärke auf sterile Verhältnisse ankommt, wie sie bei Lagerung in 0,1 M Natriumnitratlösung, der 200 ppm Natriumazid als Bakterizid beigefügt sind, vorliegen. Im Verlauf der Überprüfung der Molmassen hinsichtlich der Lagerstabilität nimmt die gewichtsmittlere Molmasse der ersten Vergleichslösung in 108 Tagen von 172.000 g/mol auf 70.000 g/mol, was nur noch 40 % der Ausgangsmolmasse ausmacht, ab. Im Fall der zweiten Vergleichslösung ist die Abnahmen von 171.000 g/mol auf 28.000 g/mol, also auf 17 % der ursprünglichen Ausgangsmolmasse, noch gravierender.

## Ergebnisse und Diskussion

*Tabelle 5.4.1-5 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der in Wasser gelagerten Probe HES P + L 1025. Die Ergebnisse der ersten Vergleichslösung sind grau hinterlegt.*

Lagerdauer (Tage)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
3	74.000	172.000	354.000	2,3	95,3
	73.000	171.000	349.000	2,3	95,4
10	64.000	148.000	293.000	2,3	96,0
	58.000	126.000	241.000	2,2	95,0
18	55.000	130.000	253.000	2,4	97,2
	38.000	89.000	167.000	2,4	96,3
25	50.000	116.000	222.000	2,3	96,5
	30.000	70.000	131.000	2,4	98,3
32	47.000	108.000	204.000	2,3	96,3
	30.000	62.000	110.000	2,1	91,3
39	47.000	101.000	187.000	2,2	95,1
	28.000	55.000	96.000	2,0	89,9
46	41.000	94.000	176.000	2,3	95,8
	28.000	51.000	88.000	1,8	85,7
60	41.000	85.000	153.000	2,1	93,7
	21.000	41.000	72.000	2,0	86,8
67	37.000	80.000	143.000	2,2	94,1
	20.000	38.000	66.000	2,0	86,0
73	35.000	77.000	139.000	2,2	94,2
	23.000	39.000	64.000	1,7	77,9
81	41.000	77.000	133.000	1,9	90,8
	16.000	33.000	60.000	1,8	89,2
88	39.000	75.000	131.000	1,9	90,1
	19.000	35.000	59.000	1,8	80,8
95	36.000	71.000	124.000	2,0	90,4
	14.000	30.000	53.000	2,2	89,9
102	34.000	69.000	122.000	2,0	91,4
	15.000	31.000	56.000	2,0	84,4
108	37.000	70.000	121.000	1,9	88,9
	12.000	28.000	54.000	2,3	89,7

Der Verlauf der Konzentrationssignale ist für die ersten Messungen bei beiden Vergleichsproben monomodal. In Laufe der Lagerungszeit kommt im Bereich niedermolekularer Bestandteile eine Schulter hinzu, die um so ausgeprägter ist, je kleiner die Molmasse der Probe bzw. je länger die Lagerungsdauer ist. Bei den hochmolekularen Proben erscheint im Streulichtsignal ein kleiner Peak aus hochmolekularen Bestandteilen, der jedoch im Konzentrationssignal kein Signal aufweist, so daß dieser nicht mit ausgewertet werden kann. In **Abbildung 5.4.1-7** ist der Verlauf der Molmasse sowie des Konzentrationssignals gegen das Elutionsvolumen der beiden Vergleichslösungen zu Beginn und Ende der Lagerungsdauer dargestellt. **Abbildung 5.4.1-8** zeigt den Verlauf des Streulichtsignals der Vergleichslösungen bei einem Detektorwinkel von  $90^\circ$  zu Beginn und Ende der Lagerungsdauer. Erwartungsgemäß wird die Intensität des Streulichtsignals mit kleinerer Molmasse geringer.



*Abbildung 5.4.1-7 Verlauf der Molmasse sowie des Konzentrationssignals gegen das Elutionsvolumen der in Wasser gelagerten Vergleichslösungen 1 und 2 der Probe HES P + L 1025 zu Beginn der Lagerung nach 3 Tagen und zum Ende der Lagerung nach 108 Tagen.*

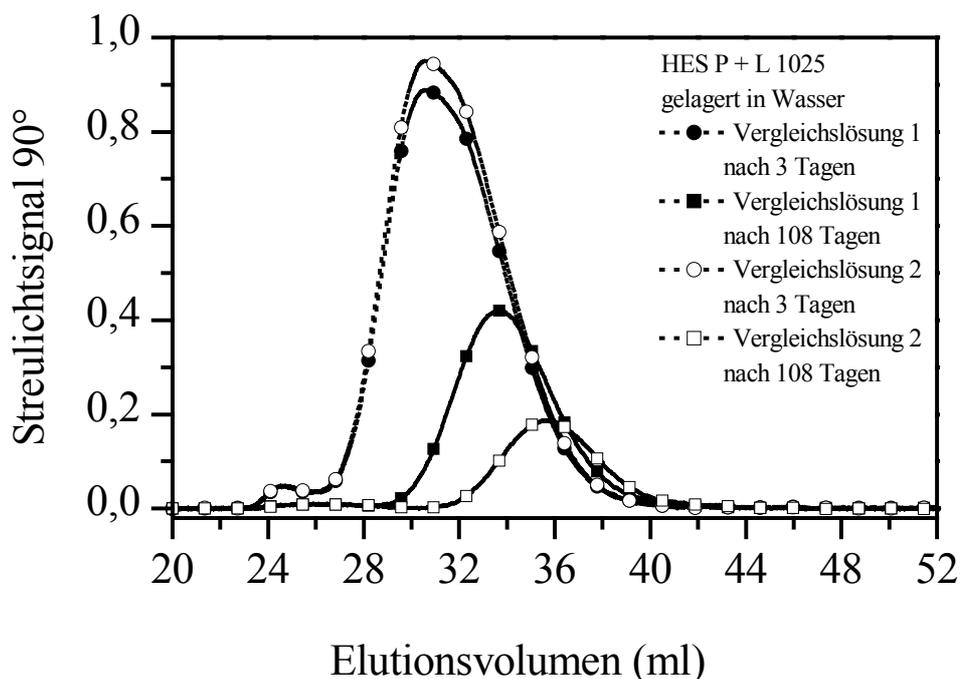


Abbildung 5.4.1-8 Verlauf der Streulichtsignale bei einem Detektorwinkel von  $90^\circ$  gegen das Elutionsvolumen der in Wasser gelagerten Vergleichslösungen 1 und 2 der Probe HES P + L 1025 zu Beginn der Lagerung nach 3 Tagen und zum Ende der Lagerung nach 108 Tagen.

Die kumulative Molmassenverteilung (**Abbildung 5.4.1-9**) zeigt zum einen den Unterschied der Molmassen der Vergleichslösungen nach 108 Tagen Lagerung sowie das Auftreten einer Bimodalität bei Abnahme der Molmasse durch den Einfluß der niedermolekularen Flanke.

Zur Übersicht über den Abbau der Molmassen werden in **Abbildung 5.4.1-10** die kumulativen Molmassen der Vergleichslösung 2 der Probe HES P + L 1025 dargestellt. Die kontinuierliche Abnahme der Molmasse ist gut zu verfolgen. Zu Beginn ist die Annahme größer als gegen Ende der Lagerungsdauer. Der Abbau erfolgt - nicht wie beim Ultraschallabbau - überwiegend im Bereich der hochmolekularen Flanke, sondern über die gesamte Probe.

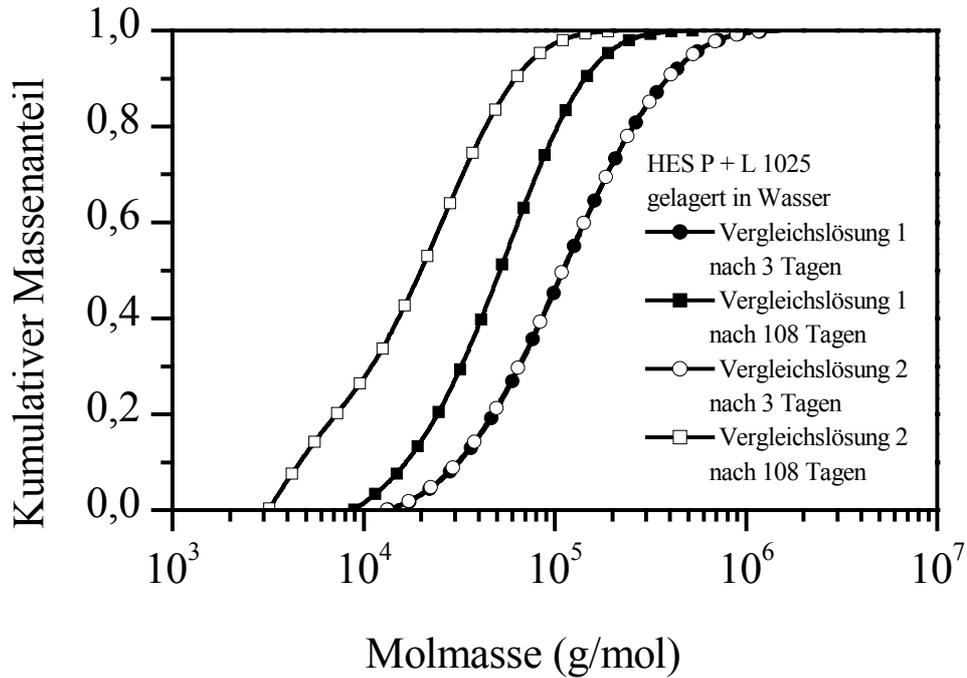


Abbildung 5.4.1-9 Kumulative Molmassenverteilungen der Vergleichslösungen 1 und 2 der in Wasser gelagerten Probe HES P + L 1025 zu Beginn (3 Tage) der Lagerung und nach 108 Tagen Lagerung.

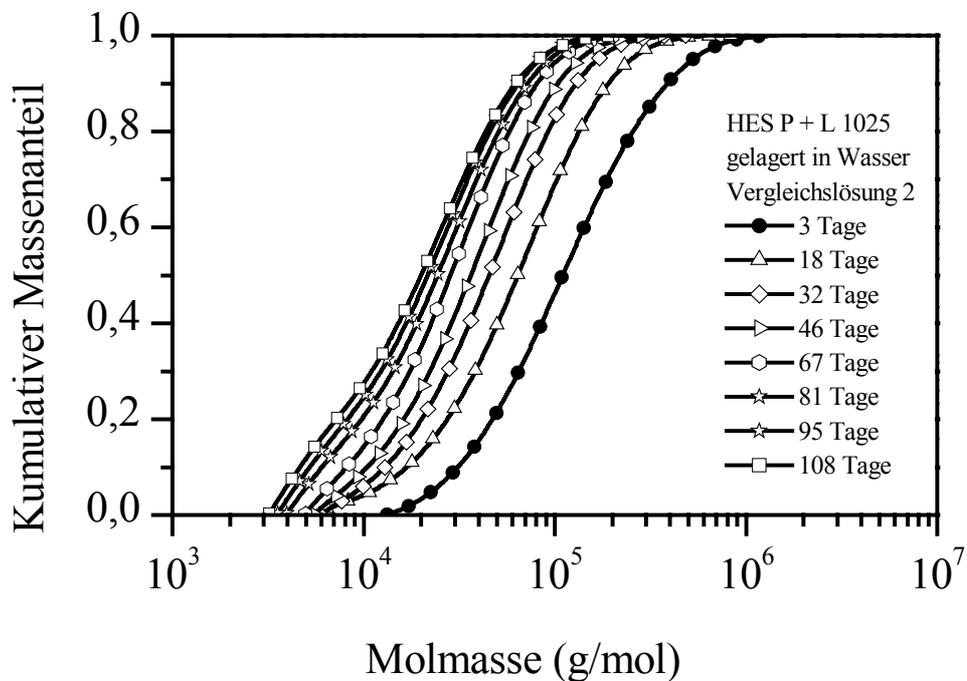
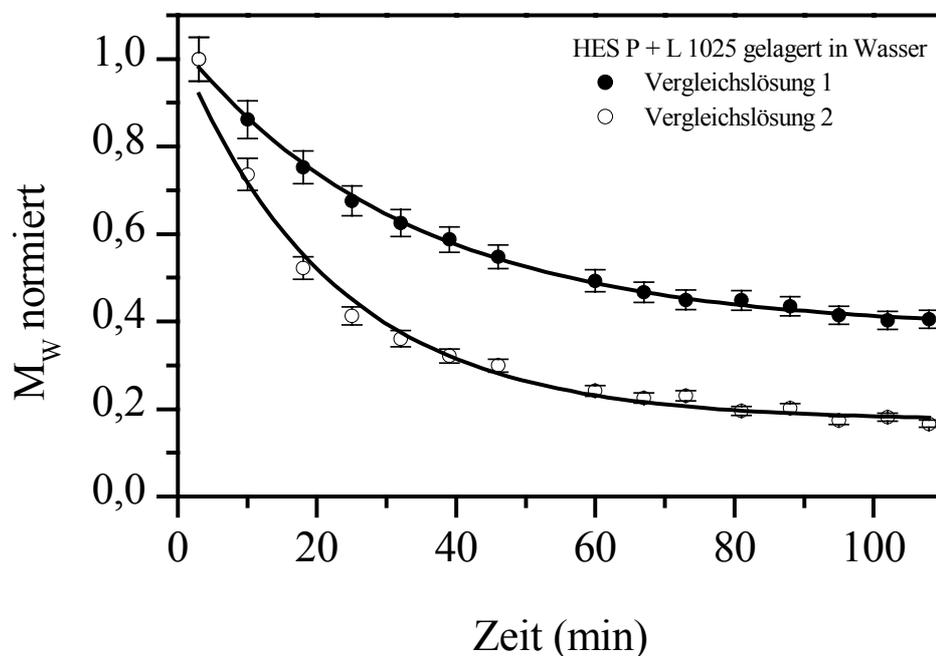


Abbildung 5.4.1-10 Kumulative Molmassenverteilungen der Vergleichslösung 2 von Probe HES P + L 1025 gelagert in Wasser nach unterschiedlich langer Lagerungsdauer.

Die Darstellung der normierten Molmasse in **Abbildung 5.4.1-11** zeigt für beide Vergleichslösungen eine exponentielle Abnahme. Der Abbau erfolgt jedoch unterschiedlich schnell.



*Abbildung 5.4.1-11 Darstellung der normierten Molmassen gegen die Lagerungsdauer der in Wasser gelagerten Vergleichslösungen der Probe HES P + L 1025. Angepaßt sind beide Kurven mit einem exponentiellen Fit erster Ordnung.*

Die Untersuchung an der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten Probe HES AK B zeigt, das diese im Gegensatz zu vorher beschriebenen HES P + L 1025 nicht stabil ist, wobei das Abbauverhalten der beiden Vergleichslösungen dabei nahezu gleich ist. In **Tabelle 5.4.1-6** sind die Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen zusammengefaßt. Zusätzlich sind die Abweichungen der Ergebnisse hinsichtlich der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  der beiden Probenlösungen in Prozent angegeben. Die Unterschiede liegen innerhalb der Fehlertoleranzen des Meßsystems, die Abweichungen nehmen aber mit längerer Zeitdauer zu. Daher kann man davon ausgehen, das sich die Vergleichsproben zwar sehr ähnlich, aber nicht genau gleich verhalten. Die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  nimmt von 198.000 g/mol auf 162.000 g/mol, also auf 81,5 % der Ausgangsmolmasse, ab.

*Tabelle 5.4.1-6 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten Probe HES AK B.*

Lagerdauer (Tage)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)	Abweichungen $M_w$ (%)
3	84.000	198.000	399.000	2,4	93,9	0,5
11	78.000	196.000	403.000	2,5	98,5	0,4
18	81.000	196.000	399.000	2,4	95,2	0,1
25	77.000	193.000	396.000	2,5	95,4	0,0
32	76.000	191.000	390.000	2,5	96,4	0,5
39	70.000	188.000	389.000	2,7	97,4	1,0
46	73.000	187.000	384.000	2,6	96,8	1,7
53	71.000	182.000	372.000	2,6	97,0	2,3
60	68.000	175.000	358.000	2,6	97,4	2,2
67	72.000	176.000	354.000	2,4	96,4	3,6
74	72.000	175.000	352.000	2,4	96,7	4,8
81	68.000	172.000	351.000	2,5	96,9	5,0
88	63.000	165.000	339.000	2,6	98,5	5,2
95	69.000	166.000	334.000	2,4	97,9	6,3
102	77.000	168.000	329.000	2,2	95,7	5,8
108	68.000	162.000	322.000	2,4	97,3	6,9

Der Verlauf des Konzentrationssignals zeigt für alle Proben eine leichte Schulter im Bereich der niedermolekularen Bestandteile. Das Streulichtsignal ist für alle Messungen monomodal und verschiebt sich mit längerer Lagerungsdauer zu höheren Elutionsvolumina. Die differentielle Molmassenverteilung zeigt einen monomodalen Verlauf und mit längerer Lagerungsdauer eine Verschiebung zu kleineren Molmassen. Die Breite der Verteilungen ändert sich dabei nicht merklich. In **Abbildung 5.4.1-12** ist der Verlauf der Molmasse gegen das Elutionsvolumen der Ausgangsprobe und der Probe nach 109 Tagen Lagerung abgebildet. Des weiteren ist der Verlauf der Konzentrationssignale und der Streulichtsignale mit aufgeführt. In **Abbildung 5.4.1-13** sind die kumulativen Molmassenverteilungen der Probe nach verschiedenen langen Lagerungszeiten aufgetragen.

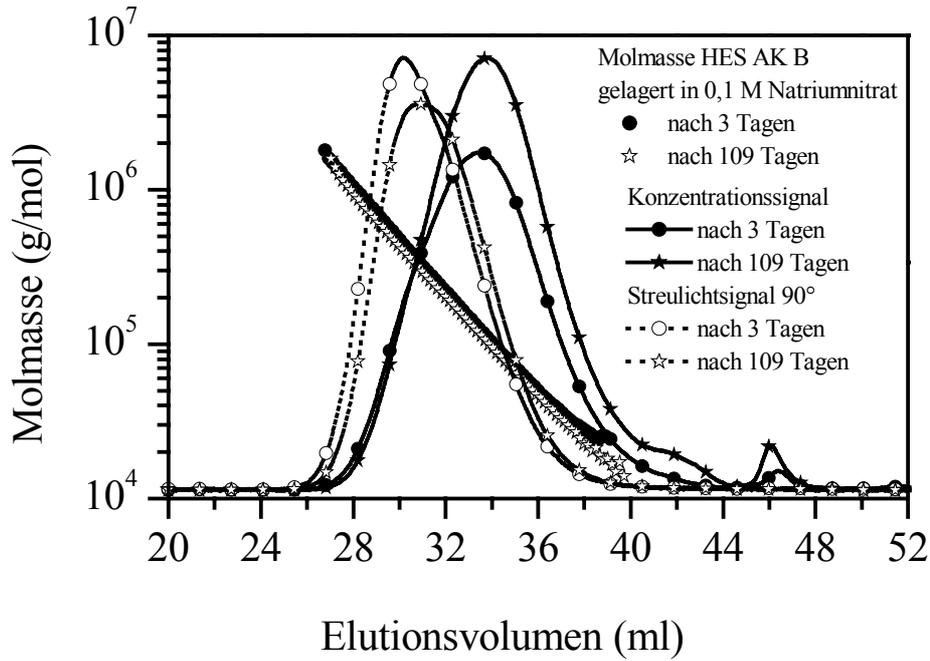


Abbildung 5.4.1-12 Verlauf von Molmasse und Konzentrations- (geschlossene Symbole mit durchgezogener Linie) sowie Streulichtsignal (offene Symbole mit gepunkteter Linie) der in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten Probe HES AK B nach 3 bzw. 109 Tagen Lagerung.

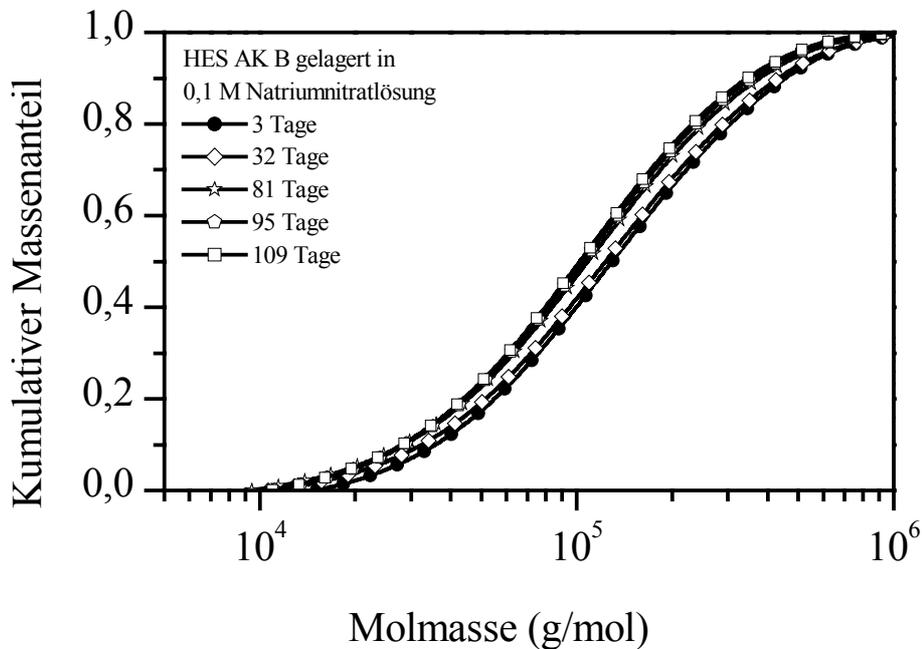
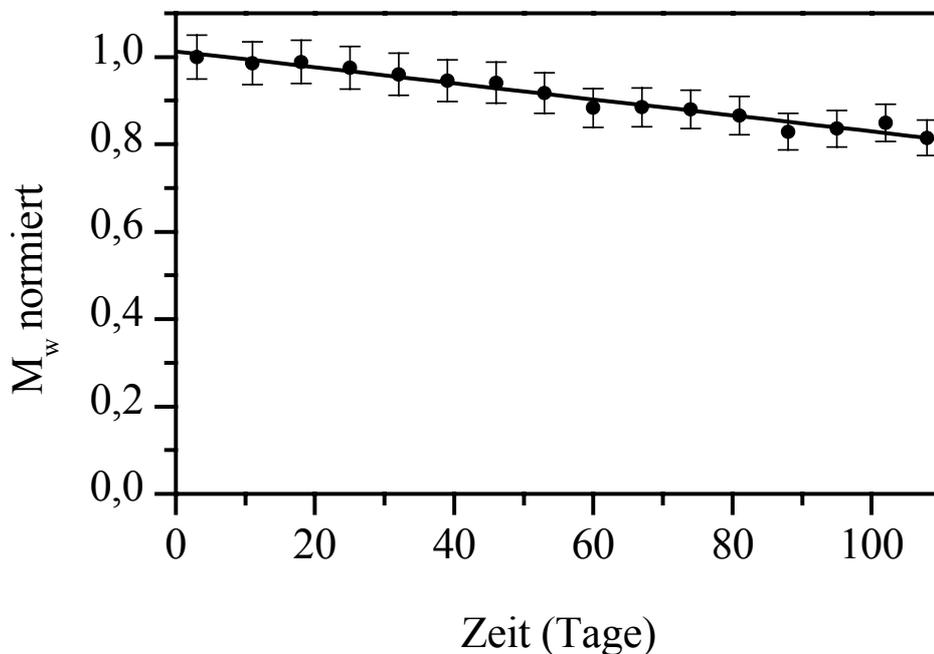


Abbildung 5.4.1-13 Kumulative Molmassenverteilung der in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten Probe HES AK B zu unterschiedlichen Lagerungszeiten.

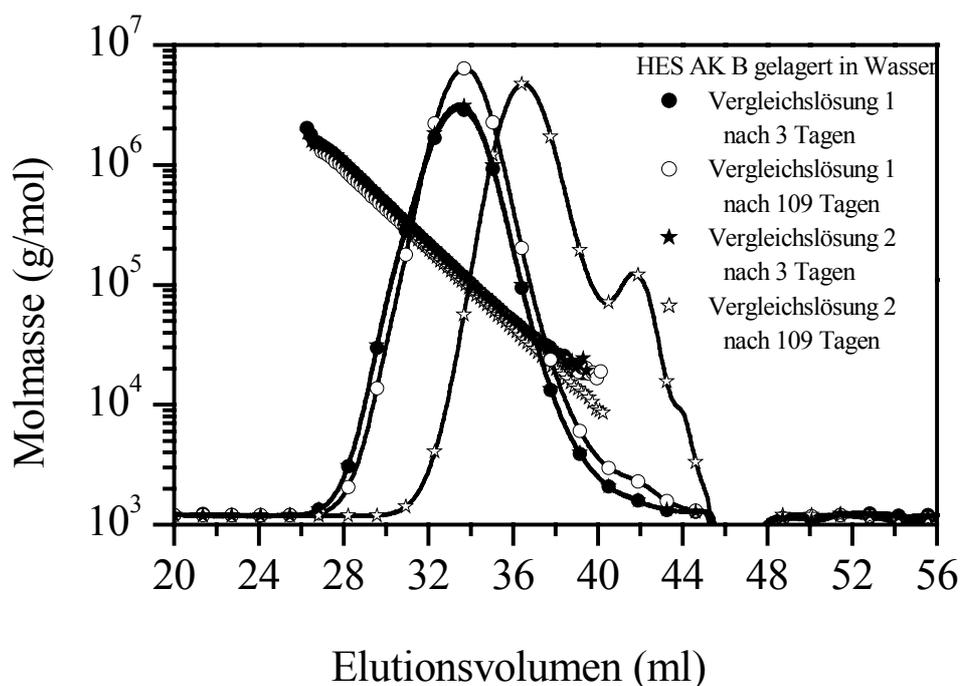
Der Abbau der Molmassen der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe HES AK B ergibt über den beobachteten Zeitraum einen linearen Abfall, wie in **Abbildung 5.4.1-14** zu sehen ist.



*Abbildung 5.4.1-14 Auftragung der auf die Ausgangsmolmasse normierten Molmasse  $M_w$  gegen die Lagerungsdauer der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe HES AK B. An die Werte wurde eine Gerade angepaßt.*

Die in Wasser gelagerte Probe HES AK B ist gleichfalls nicht lagerstabil. Ebenfalls ist wie bei der in Wasser gelagerten Probe HES P +L 1025 das Verhalten des Abbaus der Vergleichslösungen unterschiedlich. **Tabelle 5.4.1-7** gibt die Werte für die beiden Vergleichslösungen an. Bei einer Vergleichslösung nimmt die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  von 197.000 g/mol auf 152.000 g/mol ab. Dieser Wert entspricht 77 % der Ausgangsmolmasse. Die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  der anderen Vergleichslösung sinkt von 197.000 g/mol auf 47.000 g/mol, was 24 % des Ausgangswertes entspricht. Der Verlauf des Konzentrations- und Streulichtsignals entspricht dem der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten Lösung. Je kleiner die Molmasse wird, desto größer wird die Schulter zur niedermolekularen Flanke im Konzentrationssignal. In **Abbildung 5.4.1-15** ist der Verlauf der Molmasse gegen das Elutions-

volumen sowie das Konzentrations- und Streulichtsignal der beiden Vergleichslösungen zu Beginn der Lagerstabilitätsuntersuchungen und nach 109 Tagen dargestellt. Die Darstellung der kumulativen Molmassenverteilung dieser Lösungen (**Abbildung 5.4.1-16**) zeigt die unterschiedliche Abnahme der Molmassen. Die Breite der Verteilung nimmt nicht wesentlich ab.



*Abbildung 5.4.1-15 Verlauf der Molmasse sowie des Konzentrationssignals gegen das Elutionsvolumen der in Wasser gelagerten Vergleichslösungen 1 und 2 der Probe HES AK B nach 3 und 109 Tagen Lagerung.*

Trägt man die normierten Molmassen  $M_w$  der beiden Vergleichslösungen gegen die Lagerungsdauer auf (**Abbildung 5.4.1-17**), so erhält man für die erste Vergleichslösung einen kontinuierlichen Abfall der Molmassen, der sich mit einem linearen Fit erster Ordnung anpassen läßt. Für die Vergleichslösung 2 ist das Verhalten des Abbaus während der ersten 39 Tage ähnlich wie im Fall der ersten Vergleichslösung. Danach setzt jedoch ein sprunghafter Abfall der Molmasse ein. Diese Daten lassen sich nicht über den gesamten Zeitraum der Messungen anfitten. Ab 46 Tagen Lagerungsdauer erfolgt der Abfall der Molmassen der Vergleichslösung 2 der in Wasser gelagerten Probe HES AK B exponentiell.

## Ergebnisse und Diskussion

*Tabelle 5.4.1-7 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der in Wasser gelagerten Probe HES AK B. Grau unterlegt sind die Ergebnisse der ersten Vergleichslösung.*

Lagerdauer (Tage)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
3	77.000	197.000	404.000	2,5	95,3
	80.000	197.000	404.000	2,5	95,2
11	80.000	196.000	401.000	2,5	95,6
	80.000	196.000	401.000	2,4	94,7
18	77.000	194.000	395.000	2,5	96,5
	75.000	191.000	393.000	2,6	96,7
25	73.000	192.000	399.000	2,7	97,6
	71.000	187.000	385.000	2,6	97,5
32	79.000	191.000	387.000	2,4	95,6
	78.000	186.000	374.000	2,4	95,6
39	73.000	189.000	390.000	2,6	97,2
	67.000	176.000	363.000	2,6	96,5
46	73.000	187.000	379.000	2,6	97,8
	63.000	146.000	284.000	2,3	94,7
53	76.000	184.000	369.000	2,4	97,5
	49.000	109.000	203.000	2,2	94,1
60	76.000	179.000	358.000	2,4	93,6
	46.000	90.000	157.000	1,9	88,8
67	70.000	170.000	339.000	2,4	99,6
	37.000	77.000	139.000	2,1	91,7
74	71.000	171.000	339.000	2,4	99,1
	30.000	66.000	118.000	2,2	91,7
81	58.000	163.000	333.000	2,8	96,4
	27.000	53.000	111.000	2,2	88,5
88	68.000	163.000	322.000	2,4	99,7
	28.000	57.000	102.000	2,0	83,8
95	68.000	159.000	312.000	2,3	94,7
	29.000	53.000	95.000	1,9	80,0
102	78.000	159.000	294.000	2,1	97,3
	27.000	50.000	88.000	1,8	77,6
108	64.000	152.000	298.000	2,4	94,8
	27.000	47.000	80.000	1,8	74,3

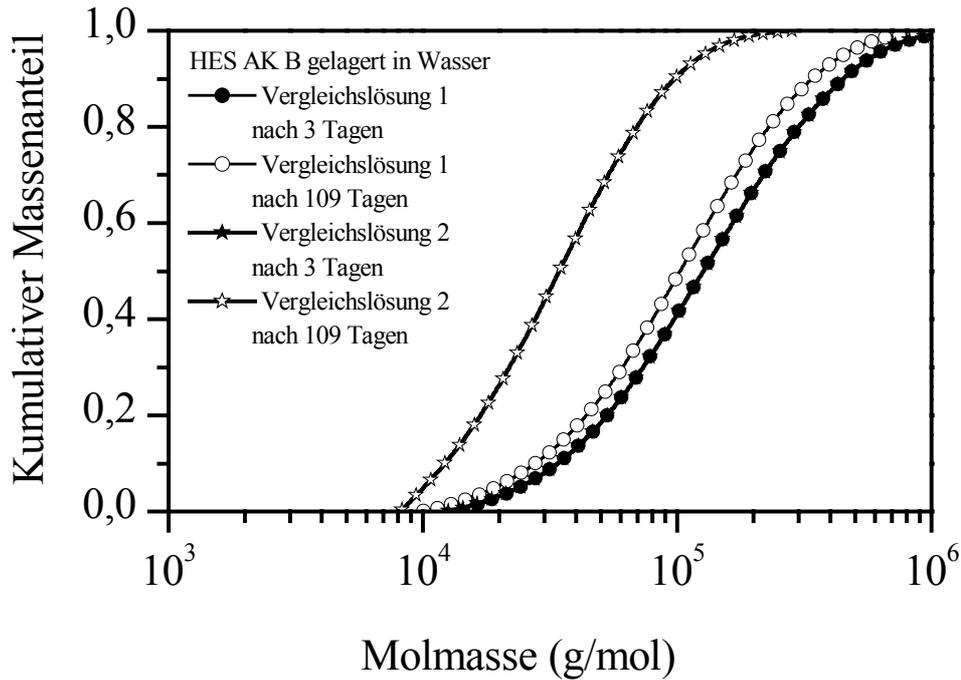


Abbildung 5.4.1-16 Kumulative Molmassenverteilungen der in Wasser gelagerten Vergleichslösungen 1 und 2 der Probe HES AK B nach 3 und 108 Tagen Lagerung.

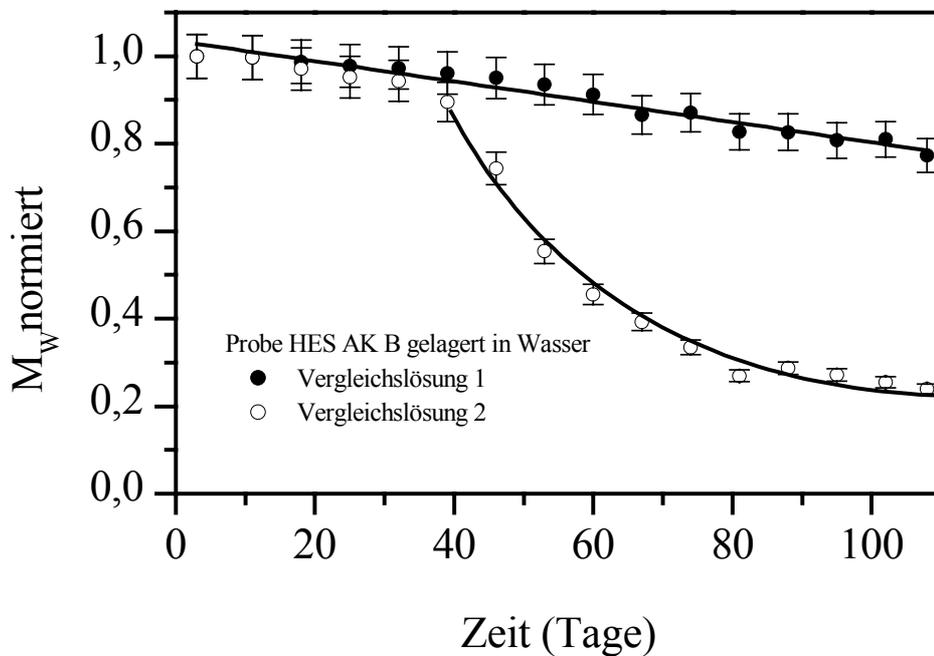


Abbildung 5.4.1-17 Darstellung der auf die Ausgangsmolmasse normierten Molmasse  $M_w$  gegen die Lagerungsdauer der in Wasser gelagerten Vergleichslösungen der Probe HES AK B.

Von der Probe HES AK B wurde eine Lösung in D<sub>2</sub>O angesetzt und über einen Zeitraum von vier Monaten einmal monatlich mittels <sup>13</sup>C-NMR vermessen. Diese Messungen ergaben keine Änderung der chemischen Struktur, die Signalintensitäten für die C-Atome in Position 7 und 8 gehen jedoch im Signal-Rausch-Verhältnis unter. In **Abbildung 5.4.1-18** sind die vier Spektren dargestellt. Die Werte der chemischen Verschiebungen sind in **Tabelle 5.4.1-8** aufgeführt. Diese zeigen keine Abweichungen voneinander.

*Tabelle 5.4.1-8 Chemische Verschiebung der Peaks des <sup>13</sup>C-NMR-Spektrums der Probe HES AK B in D<sub>2</sub>O und die Zuordnung der dazugehörigen C-Atome der jeweiligen Messung.*

Messung	chem. Verschiebung (ppm)	Zuordnung zu C-Atom
1	60,43 - 60,81	C-6
	70,91 – 79,66	C-2, C-3, C-4, C-5
	96,86	C-1 <sub>sub an C-2</sub>
	99,65	C-1
2	60,43 - 60,80	C-6
	70,68 – 79,53	C-2, C-3, C-4, C-5
	96,86	C-1 <sub>sub an C-2</sub>
	99,55	C-1
3	60,40 – 60,81	C-6
	69,31 – 79,51	C-2, C-3, C-4, C-5
	96,85	C-1 <sub>sub an C-2</sub>
	99,64	C-1
4	60,42 – 60,81	C-6
	70,72 – 79,54	C-2, C-3, C-4, C-5
	96,88	C-1 <sub>sub an C-2</sub>
	99,62	C-1

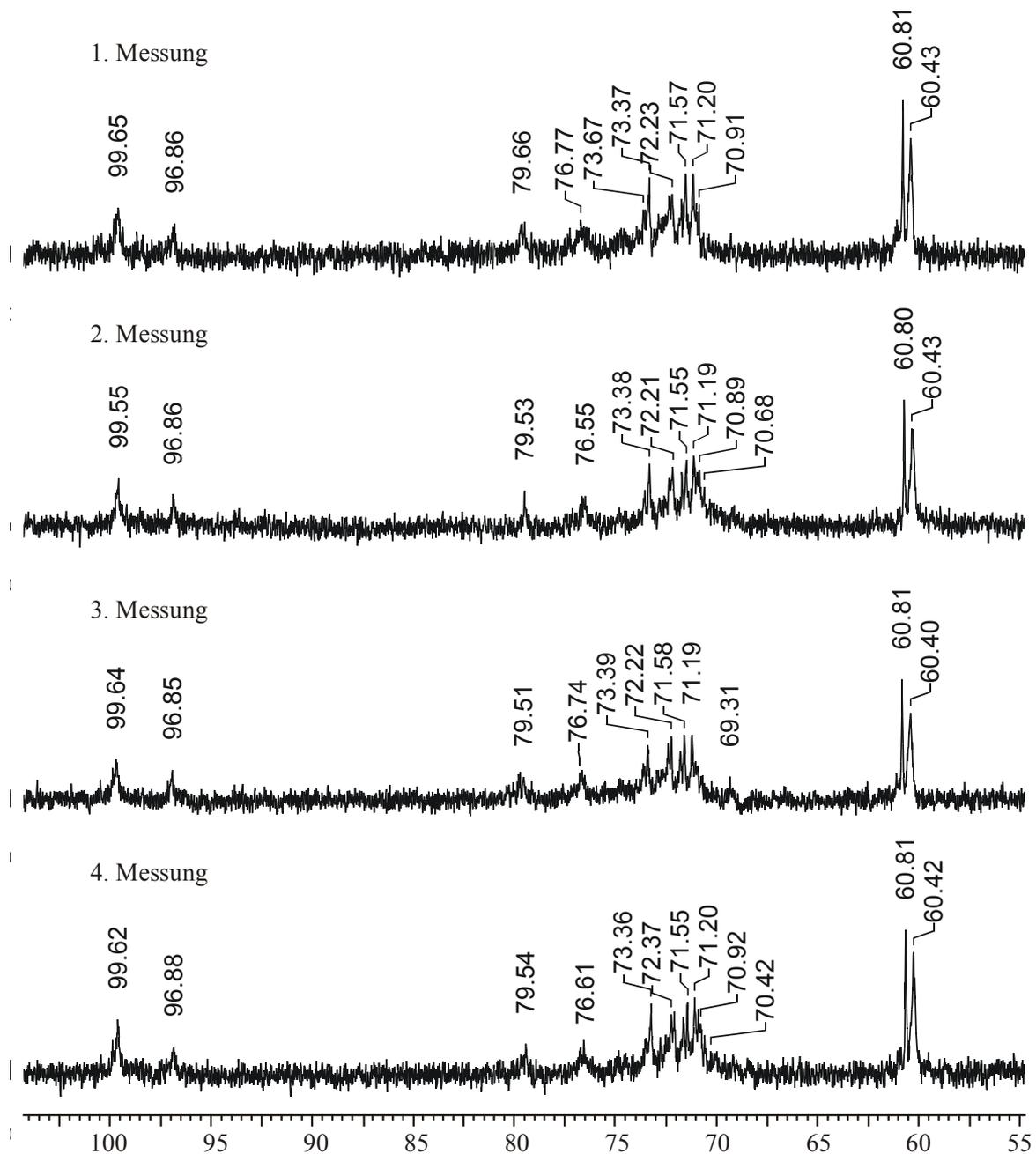


Abbildung 5.4.1-18  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren der Probe HES AK B gelagert in  $\text{D}_2\text{O}$ .

Die in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerte Probe HES P + L 1025 ist parallel zu den SEC/MALLS/RI-Messungen hinsichtlich ihres Raumbedarfes mittels Viskosimetrie einmal monatlich vermessen worden. Die dabei erhaltenen Staudinger-Indizes  $[\eta]$  sind alle sehr klein, ergeben aber recht gute Regressionskoeffizienten. Daher wurde zur Kontrolle eine Glucose-Verdünnungsreihe vermessen. Diese ergab einen Staudinger-Index  $[\eta]$  von  $2 \text{ cm}^3/\text{g}$ . In **Tabelle 5.4.1-9** sind die erhaltenen

Staudinger-Indizes  $[\eta]$ , die Regressionskoeffizienten sowie der Koeffizient  $k_\eta$  der  $[\eta]$ -M-Beziehung aufgeführt. Im Rahmen der Meßgenauigkeit kann man davon ausgehen, daß sich keine Veränderung der Probe ergibt, was mit den SEC/MALLS/RI-Messungen übereinstimmt.

*Tabelle 5.4.1-9 Ergebnisse der viskosimetrischen Messungen der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe HES P + L 1025 in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer.*

Lagerdauer (Tage)	$[\eta]$ (cm <sup>3</sup> /g)	Regressionskoeffizient	$k_\eta$
6	14,9	0,9990	1,043
35	14,8	0,9995	1,035
67	14,6	0,9995	1,041
97	14,7	0,9998	1,053

## 5.4.2 Untersuchungen an mittels CPF getrennten HES

### 5.4.2.1 Prinzip der kontinuierlichen Polymerfraktionierung (CPF)

Die kontinuierliche Polymerfraktionierung wurde entwickelt, um große Polymermengen enger Molmassenverteilung aus breitverteilten Ausgangsverbindungen<sup>1,2</sup>, die sich nicht ohne Zersetzung in den gasförmigen Zustand überführen lassen, im technischen Maßstab herzustellen. Bei der CPF handelt es sich um eine Gegenstromextraktion, bei der die zur Fraktionierung benötigte Zweiphasigkeit durch das Polymer selbst herbeigeführt wird<sup>3</sup>. Es wird eine gefüllte Säule zur Ausführung der Gegenstromextraktion verwendet<sup>4</sup>.

Das Prinzip der CPF läßt sich am einfachsten mit Hilfe eines binären Systems beschreiben: Bei einem binären System verwendet man ein Polymer und ein  $\theta$ -Lösungsmittel. Die homogene Lösung des Polymeren wird als sogenannter Feed verwendet und das reine  $\theta$ -Lösungsmittel wird als Extraktionsagens eingesetzt. Die Arbeitsbedingungen der Säule werden so gewählt, daß sich eine Mischungslücke innerhalb der Apparatur

<sup>1</sup> Geerissen, H., Schützeichel, P., Wolf, B. A., „*Continuous Fractionation and Solution Properties of PIB. II. CPF Optimization*“, J. Appl. Polym. Sci. 34, **1987**, 287.

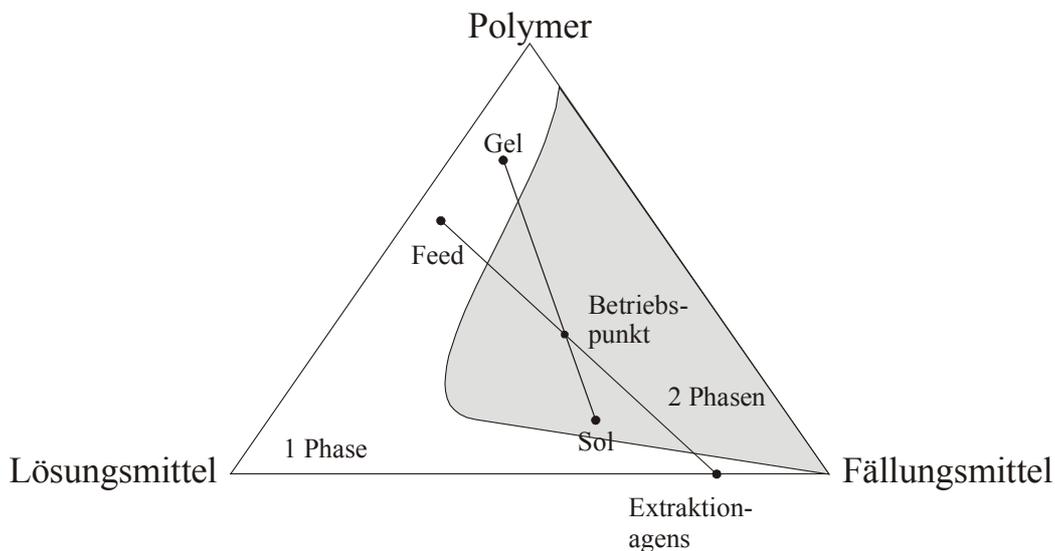
<sup>2</sup> Geerissen, H., Schützeichel, P., Wolf, B. A., „*Large scale fractionation of polyethylene by means of the continuous polymer fractionation (CPF) method*“, Makromol. Chem. 191, **1990**, 659.

<sup>3</sup> Wolf, B. A., „*Sortieren von Polymermolekülen nach ihrer Kettenlänge im technischen Maßstab*“, Johannes Gutenberg Universität Forschungsmagazin Sonderausgabe, **1997**, 38.

<sup>4</sup> <http://ipcwo36.chemie.uni-bminz.de/Internet/Interests/Cpf/>, Wolf, B. A., „*Fractionation of Polymers*“, **2001**.

bildet. Die beiden in der Säule gebildeten Phasen existieren dann nebeneinander und das Polymer, das zunächst durch den Feed in die Säule gelangt ist, verteilt sich in beiden Phasen. Normalerweise geht dabei die Polymerfraktion mit kleinerer Molmasse in die reine Lösungsmittelphase über. Da dieser Prozeß kontinuierlich stattfindet, reichert sich schließlich der hochmolekulare Anteil in der ursprünglichen Feed-Phase an. Die Phase, die den hochmolekularen Anteil der Polymerprobe enthält, wird als Gel bezeichnet und am unteren Ende der Säule abgenommen. Die Phase, welche überwiegend die niedermolekularen Anteile enthält, wird als Sol bezeichnet und verläßt die Säule am oberen Ende.

Üblicherweise wird jedoch ein Polymer und ein Lösungsmittelgemisch eingesetzt, es liegt also ein ternäres System vor. Für dieses Trennsystem gilt ein ternäres Phasendiagramm (**Abbildung 5.4.2.1-1**).



*Abbildung 5.4.2.1-1 Ternäres Phasendiagramm zur Veranschaulichung der Funktionsweise der CPF.*

Hierbei symbolisieren die Ecken des Dreiecks jeweils die reine Komponente (Polymer, Lösungs- und Fällungsmittel) des später eingesetzten Gemisches. Das Polymer wird in recht konzentrierten Lösung aus Lösungs- und Fällungsmittel im Bereich der Einphasigkeit (im weißen Bereich des Phasendreiecks) als Feed im mittleren Teil der Säule aufgegeben. Diese Lösung wird durch eine Flüssigkeit extrahiert (Extraktionsagens), welche ebenfalls aus einem Gemisch des Lösungsmittels und des Fällungsmittels besteht und eine geringere Dichte als der Feed hat. Das Extraktionsagens (EA) wird am unteren

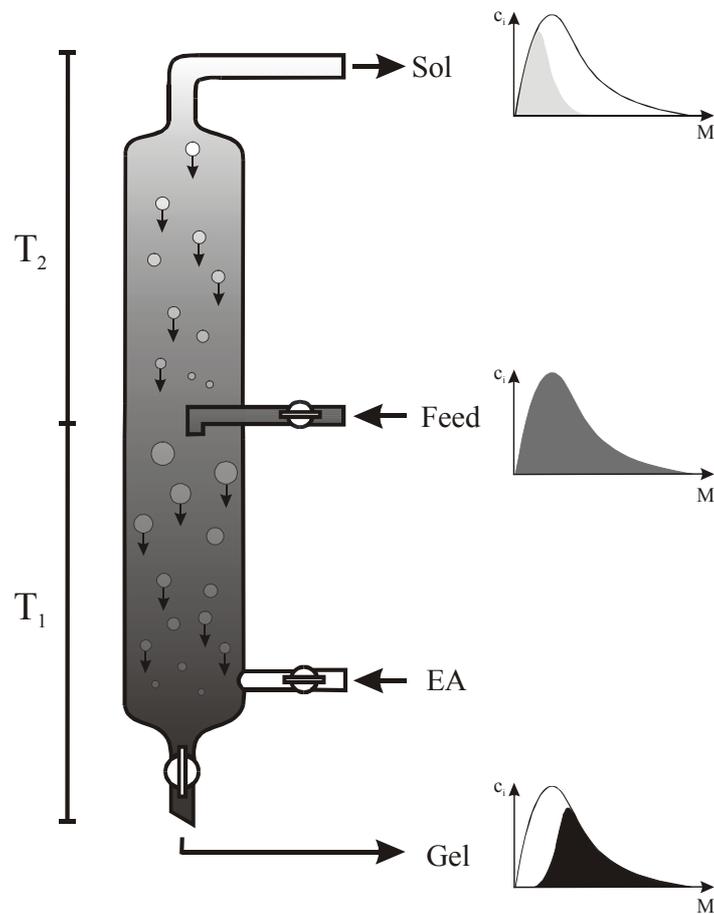
Ende der Säule in die Säule gegeben. Die Betriebsbedingungen (Fluß und Temperaturen der Säule) werden so gewählt, daß der Betriebspunkt im Bereich der Zweiphasigkeit (grauer Bereich der Phasendreiecks) befindet. Die Polymermoleküle verteilen sich in Abhängigkeit ihrer Molmasse auf die Phasen. In die verdünntere Phase gehen üblicherweise die leichter löslichen, kurzkettigen Polymere über, während die schwerer löslichen, langkettigen Polymere in der Feed-Phase verbleiben. Am oberen Ende der Säule wird die Solphase mit kleineren Molmassen abgenommen. Gewöhnlicherweise ist die Dichte der polymerreichen Phase höher als die der verdünnte Phase. Damit vereinigen sich die sedimentierenden Tröpfchen der Gel-Phase, welche die langkettigen Anteile enthalten, am Kolonnenende und werden als Gel-Fraktion entnommen. Die Trennung kann durch Temperatureinfluß noch verbessert werden. Hierfür wird in dem unteren Abschnitt der Säule mit einer anderen Temperatur gearbeitet als in dem oberen. Die Temperatur wird so gewählt, daß die Löslichkeit des Polymeren im unteren Abschnitt bei Temperatur  $T_2$  höher ist als bei der Temperatur  $T_1$  im oberen Abschnitt der Säule. In der Regel ist die Temperatur  $T_2 > T_1$ . In **Abbildung 5.4.2.1-2** ist die Säule und das Funktionsprinzip der CPF dargestellt.

### 5.4.2.2 Untersuchungen an den mittels CPF getrennten HES Proben

Von Dipl.-Chem. T. Haase, Universität Mainz, Arbeitsgruppe Prof. Dr. Wolf, standen drei Probensätze an HES Proben zur Verfügung. Diese Probensätze wurden aus HES Proben auf Basis von Wachsmaisstärke durch den Einsatz der kontinuierlichen Polymerfraktionierung (CPF, continuous polymer fractionation) gewonnen. Hierbei handelt es sich um zwei Probensätze mit der gleichen Ausgangs-Hydroxyethylstärke, die auf unterschiedliche Weise fraktioniert wurde sowie um einen weiteren Probensatz mit einer Ausgangs-Hydroxyethylstärke niedrigerer Molmasse.

Von der als HES B gezeichneten Ausgangsprobe wurde die Trennung des Polymers mittels CPF auf zwei unterschiedliche Weisen durchgeführt. Im ersten Fall wurde die Ausgangsprobe mittels eines Lösungsmittelgemisches aus Wasser und Aceton getrennt. Die erhaltene Gel-Phase wurde wiederum mit reinem Mischlösungsmittel getrennt. Man erhält somit zwei Sol- und zwei Gel-Phasen. Im zweiten Fall wurde die Trennung im ersten Schritt „normal“ ausgeführt, im zweiten Trennungsschritt wurde hingegen die Sol-Phase 1 aus dem ersten Trennungsschritt zur Fraktionierung der ersten Gel-Phase verwen-

det. In **Abbildung 5.4.2.2-1** sind die Trennschemata der beiden unterschiedlichen Fraktionierungen der Ausgangsprobe HES B dargestellt.



*Abbildung 5.4.2.1-2 Schematische Darstellung der CPF. Beschreibung siehe Text.*

In **Tabelle 5.4.2.2-1** werden die Ergebnisse bezüglich der Molmassen der SEC/MALSS/RI-Messungen der ersten Trennung a) dargestellt. Im folgenden wird diese Probenreihe als HES B  $\alpha$  bezeichnet. Im ersten Trennschritt wurde eine Feed-Zusammensetzung von 25 % Aceton, 30 % HES B  $\alpha$  sowie 45 % Wasser verwendet. Das Extraktionsagens bestand aus 49 % Aceton und 51 % Wasser, am Betriebspunkt war eine Zusammensetzung von 45 % Aceton, 5 % HES und 50 % Wasser gegeben. Die Temperatur betrug für  $T_2$  20°C und für  $T_1$  30°C. Im zweiten Trennschritt war der Feed aus 23 % Aceton mit 29 % HES Gel 1 und 48 % Wasser zusammengesetzt. Das Extraktionsagens enthielt 49 % Aceton und 51 % Wasser, am Betriebspunkt war die Zusammensetzung 45 % Aceton, 4 % HES und 51 % Wasser. Die Temperatur  $T_2$  betrug 15°C,  $T_1$  25°C.

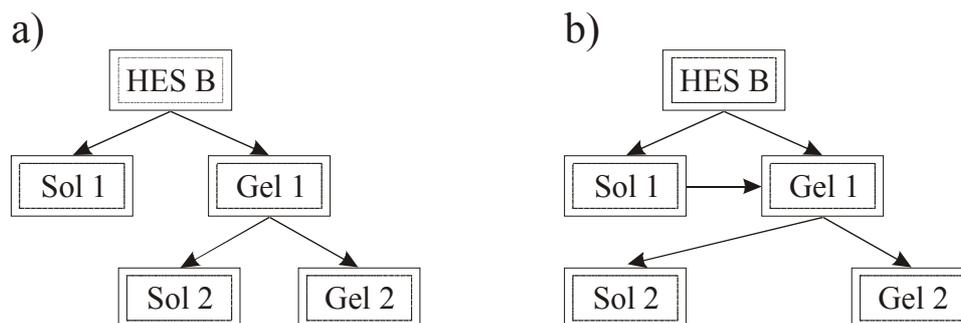


Abbildung 5.4.2.2-1 Schematische Darstellung der unterschiedlichen Trennungen der Ausgangs-Hydroxyethylstärke HES B. In a) erfolgt die Trennung auf „normalen“ Weg, nach der ersten Fraktionierung wird mit Extraktionsangens die Gel-Phase 1 getrennt. In b) erfolgt nach dem ersten Trennungsschritt die Fraktionierung, indem das Gel 1 mittels der Sol-Phase 1 extrahiert wird.

Tabelle 5.4.2.2-1 Ergebnisse der HES B  $\alpha$  und deren Fraktionen Sol 1 und 2 sowie Gel 1 und 2 bezüglich der zahlenmittleren Molmasse  $M_n$ , der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  und der z-statistischen Molmasse  $M_z$ , sowie der Polydispersität  $M_w/M_n$  und der Wiederfindungsrate WR.

Probenbezeichnung	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
HES B $\alpha$	82.000	490.000	1.334.000	6,0	89,3
HES B $\alpha$ Sol 1	11.000	19.000	35.000	1,7	69,4
HES B $\alpha$ Sol 2	55.000	145.000	379.000	2,6	95,4
HES B $\alpha$ Gel 1	129.000	515.000	1.226.000	4,0	92,8
HES B $\alpha$ Gel 2	323.000	723.000	1.286.000	2,2	99,8

Deutlich zu sehen ist anhand dieser Daten, daß die niedermolekularen Bestandteile der Ausgangsprobe mit der Solfraktion Sol 1 sehr gut abgetrennt wurde. Die Fraktionen zeigen erwartungsgemäß eine geringere Polydispersität als die Ausgangsprobe. Durch die Trennung der Gel-Phase 1 konnte die Polydispersität nochmals eingeschränkt werden. Die Wiederfindungsraten sind mit Ausnahme von HES B  $\alpha$  Sol 1 alle sehr gut. Die schlechte Wiederfindung in diesem Falle läßt sich zum einen durch die geringe Molmasse und die damit verbundenen geringe Größe der Teilchen erklären. Die Probe liegt am unteren Ende der Detektionsmöglichkeiten mittels der Lichtstreuung. Im diesem Fall tritt auch keine klare Abtrennung des Probenpeaks vom Salzpeak auf, so daß wahrscheinlich nicht die

gesamte Probensubstanz bei der Auswertung erfaßt wurde. In **Abbildung 5.4.2.2-2** ist der Verlauf der Konzentrationssignale der Ausgangsprobe und der Fraktionen dargestellt. Anhand dieser Abbildung kann man bei der Ausgangsprobe kurz vor dem Salzpeak einen kleinen Peak sehen. Dieser ist deutlich bei der Sol-Phase 1 zu erkennen und zwar mit einer sehr hohen Konzentration. Da dieser Peak bei den anderen Fraktionen nicht zu sehen ist, kann davon ausgegangen werden, daß dieser niedermolekulare Bereich vollständig abgetrennt worden ist. Dieser Peak vor dem Salzpeak ist auch nicht mit in den auswertbaren Bereich mit einbezogen worden, so daß die schlechte Wiederfindungsrate dieser Probe plausibel ist. In dem Hauptpeak der Sol-Phase 1 ist zu kleinen Molmassen (hohen Elutionsvolumen) eine Schulter zu erkennen. Die Modalität dieser Probe kann somit als insgesamt trimodal angenommen werden. Die Ausgangsprobe und die Gel-Phase 1 zeigen ebenfalls eine Tri- bzw. Bimodalität. Bei der Ausgangsprobe ist neben dem Peak vor dem Salzpeak, welcher in Zusammenhang mit der Sol-Phase 1 schon beschrieben wurde, eine Schulter kurz nach dem Peakmaximum zu sehen. Diese Schulter tritt auch bei der Gel-Phase 1 auf. Eine getrennte Auswertung dieser Bereiche ist wegen der schlechten Fraktionierung jedoch nicht möglich, so daß über den gesamten Peakbereich integriert wurde. Die Verläufe der Sol-Phase 2 und der Gel-Phase 2 sind dagegen monomodal, so daß man davon ausgehen kann, daß durch die Fraktionierung der Gel-Phase 1 eine Trennung in diesem Schulterbereich stattgefunden hat.

In **Abbildung 5.4.2.2-3** ist der Verlauf der Streulichtsignale bei einem Winkel von  $90^\circ$  der Ausgangsprobe und deren Fraktion dargestellt. Diese Abbildung zeigt, daß die Solfraktionen sehr kleine Streulichtsignalintensitäten aufzeigen. Bei der Solfraktion 2 ist darüber hinaus noch eine Bimodalität zu erkennen, die in guter Übereinstimmung mit dem Konzentrationssignal steht.

Der Verlauf der kumulativen Molmasse, wie in **Abbildung 5.4.2.2-4** dargestellt, zeigt nochmals, daß in der Tat eine deutliche Verringerung der Polydispersitäten der Fraktionen gegenüber der Ausgangsprobe erreicht werden konnte. Dabei liegen die Molmassen der Sol-Fraktionen unter der der Ausgangsprobe und die Molmassen der Gel-Fraktionen über dieser.

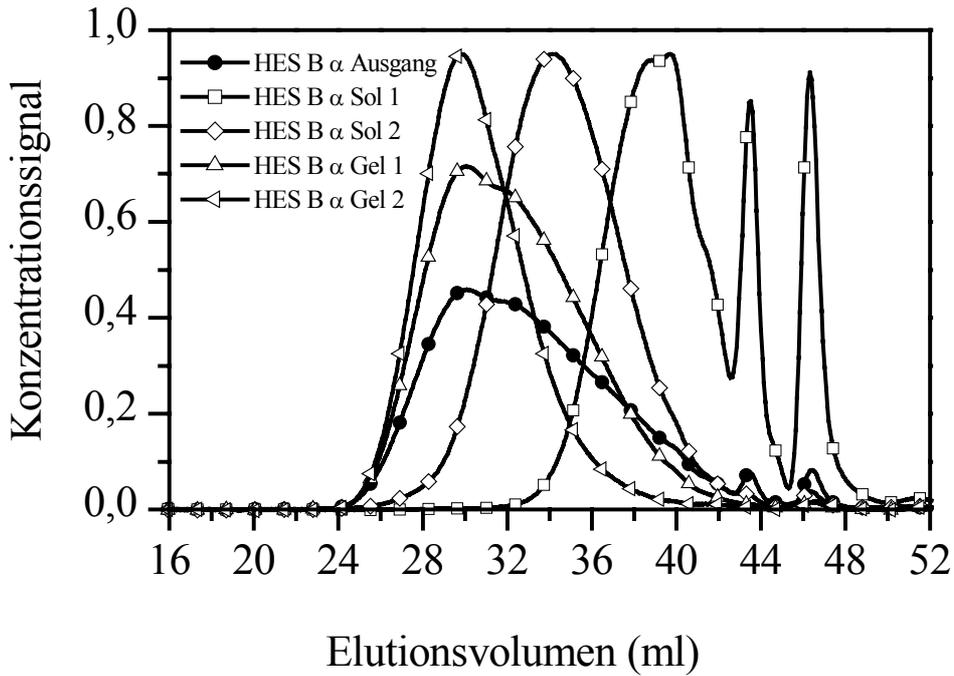


Abbildung 5.4.2.2-2 Verlauf der Konzentrationssignale der Probe HES B  $\alpha$  und deren Fraktionen.

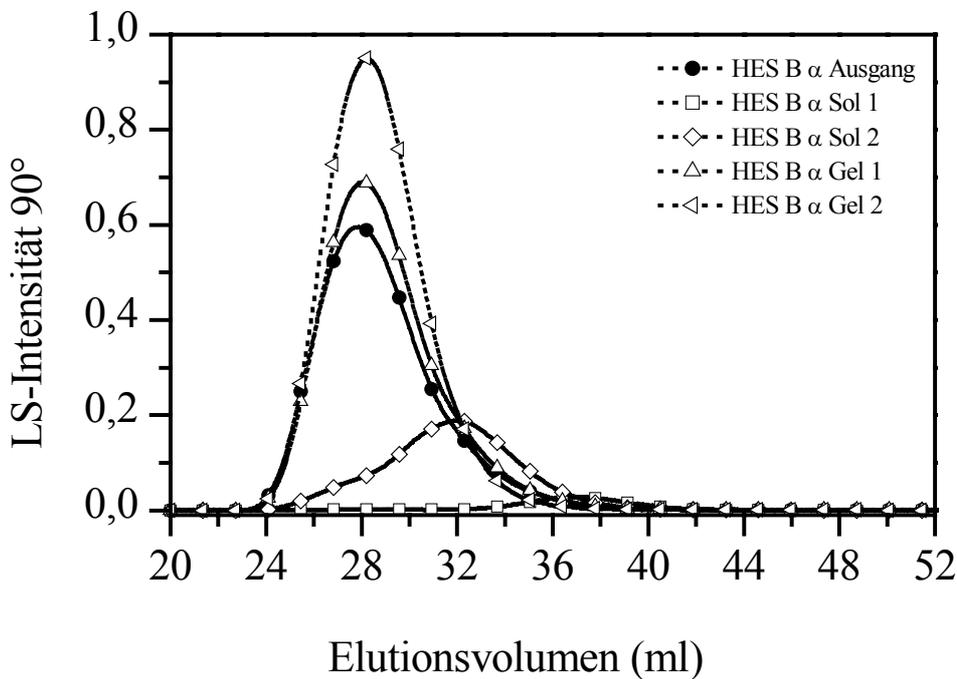


Abbildung 5.4.2.2-3 Verlauf des Streulichtsignals bei 90° der Probe HES B  $\alpha$  und deren Fraktionen.

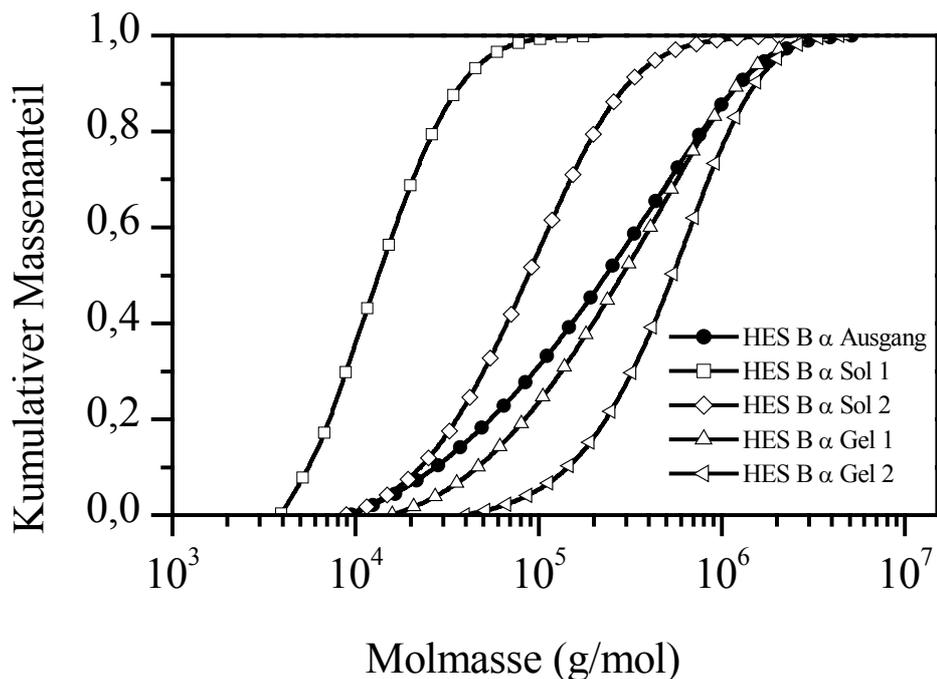


Abbildung 5.4.2.2-4 Kumulative Molmassenverteilungen der Probe HES B  $\alpha$  und deren Fraktionen.

In **Tabelle 5.4.2.2-2** sind die Ergebnisse bezüglich der Radien dargestellt. Aufgrund der geringen Größe lassen sich von Probe HES B  $\alpha$  Sol 1 die Radien nicht bestimmen und sie wird daher in der Tabelle nicht aufgeführt. Für die Proben, bei denen ein Teil des Peaks außerhalb der Bestimmungsmöglichkeiten des Radius liegt, werden die Molmassen und die Wiederfindungsrate des auswertbaren Bereiches angegeben.

Tabelle 5.4.2.2-2 Ergebnisse aus den SEC-Messungen der Probe HES B  $\alpha$  und deren Fraktionen hinsichtlich der Radien. Angegeben sind der z-statistische Radius  $R_{G_z}$ , der Exponent der  $R_G$ - $M$ -Beziehung  $\nu$ , die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  des ausgewerteten Peakbereiches sowie die Wiederfindungsrate WR dieses Bereiches.

Probenbezeichnung	$R_{G_z}$ (nm)	$\nu$	$M_w$ (g/mol)	WR (%)
HES B $\alpha$	19,7	0,47	490.000	89,3
HES B $\alpha$ Sol 2	11,5	0,45	204.000	62,4
HES B $\alpha$ Gel 1	19,1	0,44	595.000	79,5
HES B $\alpha$ Gel 2	19,5	0,45	723.000	99,8

Alle Messungen ergeben einen recht ähnlichen Exponenten  $\nu$  der  $R_G$ -M-Beziehung. Auffallend ist, daß trotz höherer gewichtsmittlerer Molmasse der Radius der Fraktion HES B  $\alpha$  Gel 2 etwas kleiner ist als der der Ausgangsprobe. Des weiteren fällt auf, daß von der Probe HES B  $\alpha$  Gel 1, die eine höhere Molmasse als die Ausgangsprobe hat, im Gegensatz zur Ausgangsprobe nicht der gesamte Peakbereich hinsichtlich des Radius ausgewertet werden kann. Dies kann an der Konzentration der vermessenen Lösungen liegen und zeigt, daß man sich im Grenzbereich der Auswertbarkeit befindet. In **Abbildung 5.4.2.2-5** ist der differentielle Verlauf des Radius der Ausgangsprobe und der Gel-Phase 2 dargestellt. Hier ist deutlich zu erkennen, daß zum einen die Verteilung der Ausgangsprobe wesentlich breiter und zum anderen auch eine Bimodalität vorhanden ist. Auf die Darstellung der anderen Proben ist verzichtet worden, da nicht der gesamte Peakbereich ausgewertet werden konnte.

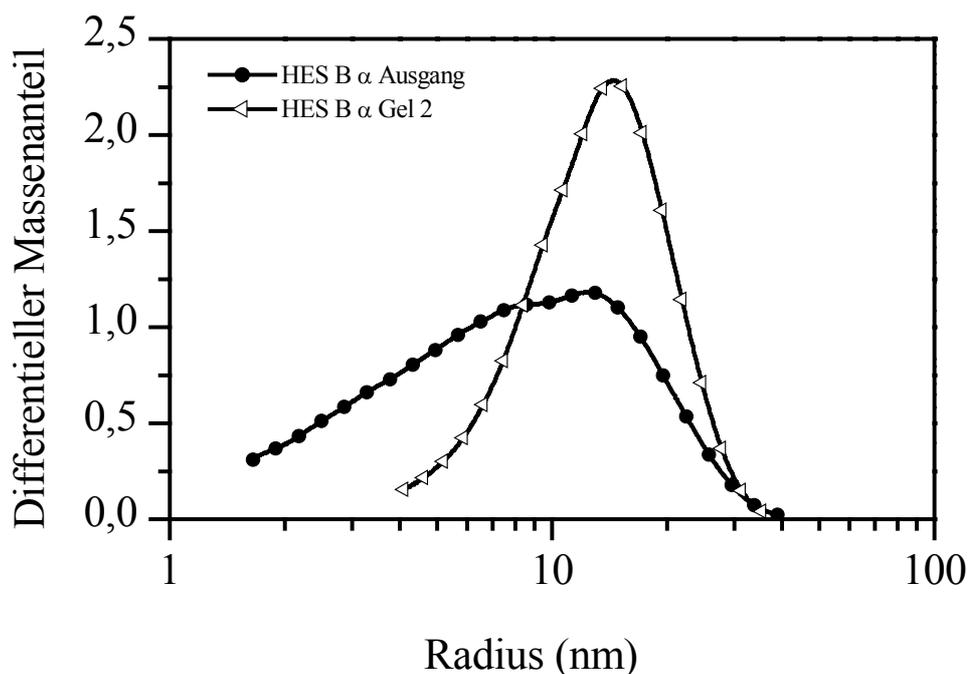


Abbildung 5.4.2.2-5 Differentieller Verlauf des Radius von Probe HES B  $\alpha$  und der Gel-Phase 2.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde die gleiche Ausgangsprobe mittels CPF getrennt, indem im zweiten Fraktionierungsschritt die Sol-Phase 1 als Extraktionsagens eingesetzt wurde. Des weiteren wurde in diesem Fall die Zusammensetzung des Lösungsmittelgemisches gegenüber der ersten Trennung variiert. Die Trennung erfolgte somit - wie in

**Abbildung 5.4.2.2-1** dargestellt – nach Schema b). Im ersten Trennschritt wurde eine Feed-Zusammensetzung von 25 % Aceton, 30 % HES B  $\beta$  sowie 45 % Wasser verwendet. Das Extraktionsagens bestand aus 47 % Aceton und 53 % Wasser, am Betriebspunkt war eine Zusammensetzung von 45 % Aceton, 5 % HES und 50 % Wasser gegeben. Die Temperatur betrug für T<sub>2</sub> 20°C und für T<sub>1</sub> 30°C. Im zweiten Trennungsschritt war der Feed aus 28,5 % Aceton mit 30 % HES Gel 1 und 41,5 % Wasser zusammengesetzt. Das Extraktionsagens enthielt 49,5 % Aceton, 1,8 % HES Sol 1 und 48,7 % Wasser, die Zusammensetzung am Betriebspunkt wurde nicht bestimmt. Die Temperatur T<sub>2</sub> betrug 20°C, T<sub>1</sub> 30°C.

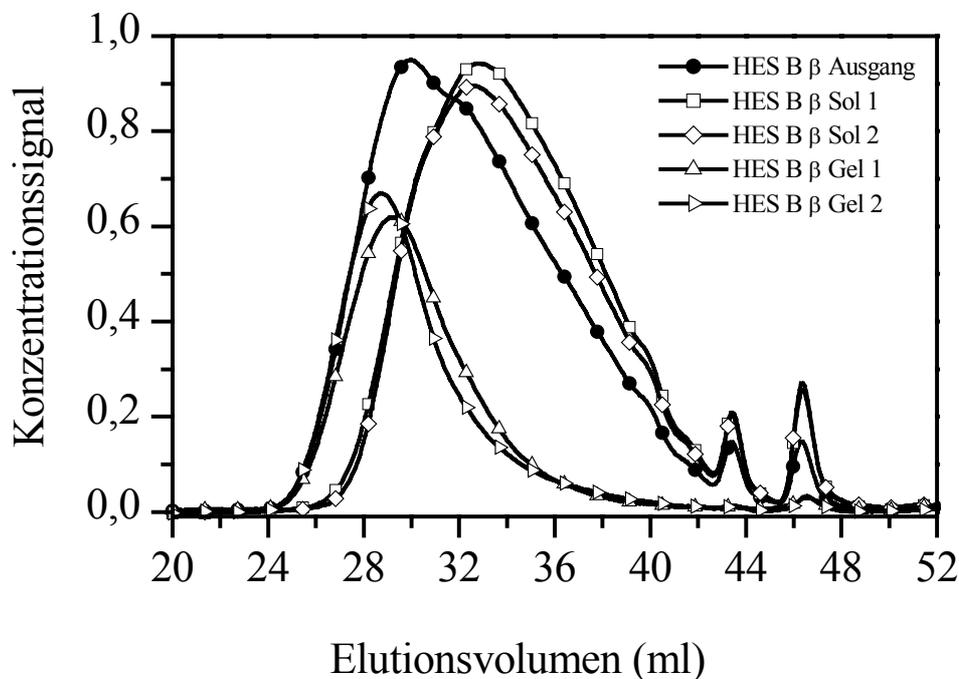
Diese Probe wird im folgenden als HES B  $\beta$  bezeichnet. In **Tabelle 5.4.2.2-3** sind die Ergebnisse bezüglich der Molmassen dargestellt. Die Werte für die Ausgangssubstanz HES B  $\beta$  weichen leicht nach unten gegenüber HES B  $\alpha$  ab. Dies läßt sich mit einer längeren Lagerzeit in Lösung erklären, so daß ein leichter Abbau der Probe eingesetzt hat.

*Tabelle 5.4.2.2-3 Ergebnisse der HES B  $\beta$  und deren Fraktionen Sol 1 und 2 sowie Gel 1 und 2 bezüglich der zahlenmittleren Molmasse  $M_n$ , der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  und der z-statistischen Molmasse  $M_z$ , sowie der Polydispersität  $M_w/M_n$  und der Wiederfindungsrate WR.*

Probenbezeichnung	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
HES B $\beta$	80.000	477.000	1.222.000	6,0	95,1
HES B $\beta$ Sol 1	55.000	219.000	551.000	4,0	93,5
HES B $\beta$ Sol 2	63.000	215.000	483.000	3,4	86,7
HES B $\beta$ Gel 1	411.000	895.000	1.502.000	2,2	93,2
HES B $\beta$ Gel 2	453.000	1.024.000	1.631.000	2,3	95,0

Auch bei dieser Trennung sind die Polydispersitäten der Fraktionen geringer als die der Ausgangssprobe. Die Probe HES B  $\beta$  Sol 2 hat zwar eine fast vergleichbare gewichtsmittlere Molmasse wie die Probe HES B  $\beta$  Sol 1, sie ist aber im Vergleich zu dieser in ihrer Polydispersität kleiner. Die Fraktion HES B  $\beta$  Gel 2 nimmt in ihrer Molmasse bezüglich der Probe HES B  $\beta$  Gel 1 zu, im Gegensatz zu einer „normalen“ Trennung steigt die Polydispersität jedoch leicht an. Dies liegt wahrscheinlich in der geringeren Polydispersität die Fraktion HES B  $\beta$  Sol 2 begründet.

In **Abbildung 5.4.2.2-6** ist der Verlauf der Konzentrationssignale der Proben HES B  $\beta$  und deren Fraktionen dargestellt. Auch in diesem Fall ist ein niedermolekularer Peak kurz vor dem Salzpeak zu beobachten. Des weiteren ist auch hier eine Schulter kurz nach dem Peakmaximum zu sehen. Der Verlauf ist somit erwartungsgemäß der Proben HES B  $\alpha$  identisch trimodal. Bei den beiden Solfraktionen ist der Peak zu niedermolekularen Teilchen kurz vor dem Salzpeak ebenfalls vorhanden. Er ist jedoch nicht so ausgeprägt, wie es bei der Probe HES B  $\alpha$  Sol 1 der Fall war. Bei beiden Solfraktionen ist eine leichte Schulter zu niedermolekularen Anteilen zu erkennen, die nicht so ausgeprägt erscheint, wie es bei der Ausgangsprobe der Fall ist und die auch erst bei niedermolekularen Anteilen auftritt. Die Gelfraktionen hingegen zeigten monomodales Verhalten im Konzentrationsverlauf. In beiden Fällen ist der niedermolekulare Peak deutlich abgetrennt.



*Abbildung 5.4.2.2-6 Verlauf der Konzentrationssignale der Probe HES B  $\beta$  und deren Fraktionen.*

**Abbildung 5.4.2.2-7** zeigt die Verläufe der Streulichtsignale bei 90° der Probe HES B  $\beta$  und deren Fraktionen. Alle Proben zeigen einen monomodalen Verlauf. Die Streulichtintensität der niedermolekularen Anteile der Proben HES B  $\beta$  Ausgang, HES B  $\beta$  Sol 1 und 2 sind für eine Detektion zu gering.

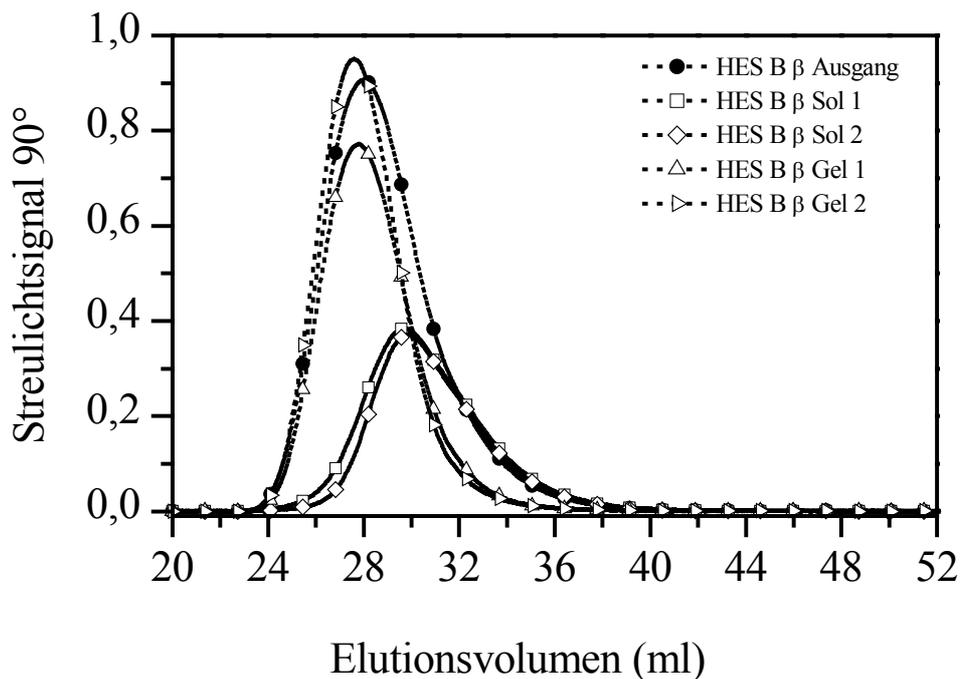


Abbildung 5.4.2.2-7 Verlauf des Streulichtsignals bei  $90^\circ$  der Probe HES B  $\beta$  und deren Fraktionen.

In der Darstellung (**Abbildung 5.4.2.2-8**) der differentiellen Molmassenverteilung wird nochmals der bimodale Charakter der Hauptpeaks der Proben HES B  $\beta$  Ausgang, HES B  $\beta$  Sol 1 und 2 und der monomodale Verlauf der Gel-Phasen deutlich.

Die Darstellung des kumulativen Verlaufs der Molmasse (**Abbildung 5.4.2.2-9**) zeigt zwar eine Verringerung der Polydispersität der Fraktionen gegenüber der Ausgangsprobe, diese ist jedoch nicht so deutlich wie es im Falle der Trennung von Probe HES B  $\alpha$  der Fall war. Die Ähnlichkeiten der Sol- bzw. Gel-Fraktionen sind aber gut zu erkennen.

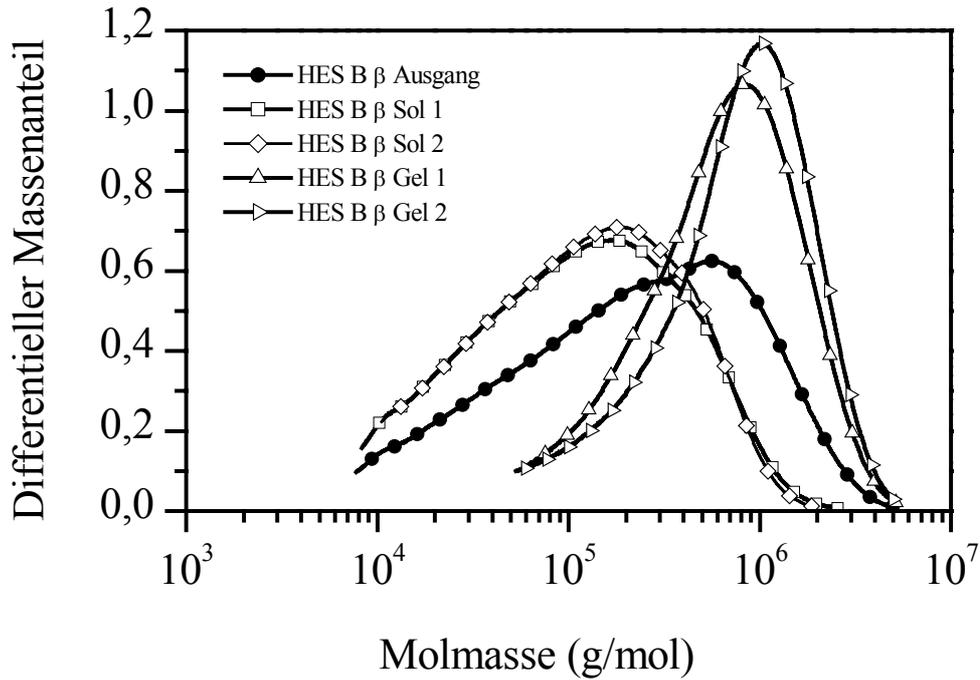


Abbildung 5.4.2.2-8 Differenzieller Molmassenverlauf der Probe HES B  $\beta$  und deren Fraktionen.

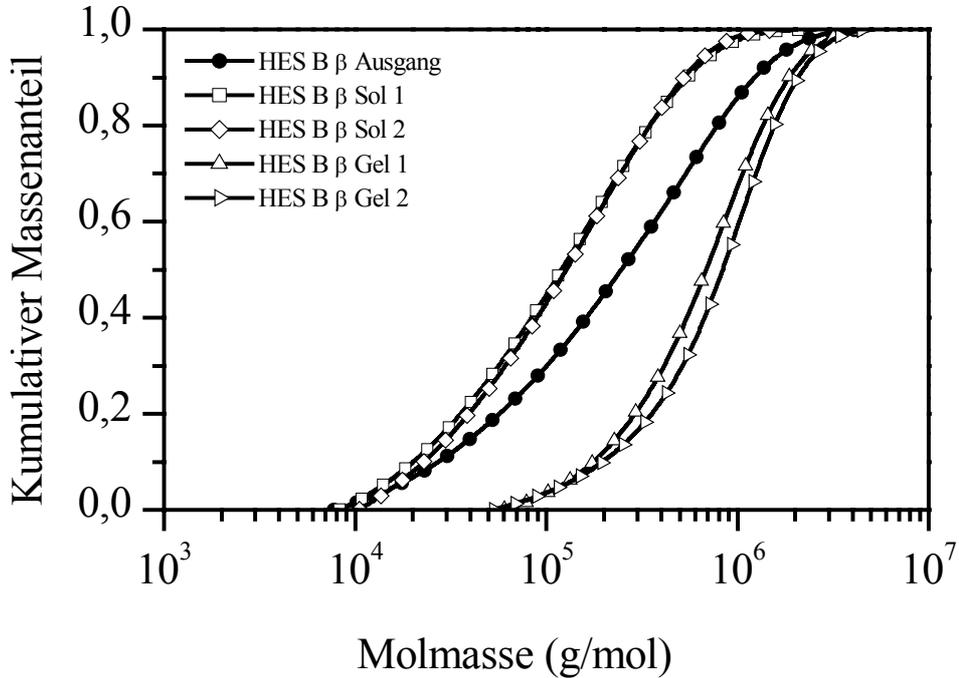


Abbildung 5.4.2.2-9 Kumulative Molmassenverteilungen der Probe HES B  $\beta$  und deren Fraktionen.

In **Tabelle 5.4.2.2-4** sind die Ergebnisse bezüglich der Radien dargestellt. Aufgrund der geringen Größe lassen sich von Probe HES B  $\beta$  Sol 1 die Radien nicht über den gesamten Peakbereich bestimmen. Bei diesen Proben korreliert der Zusammenhang zwischen Molmasse und Radius deutlich. Je größer die Molmasse, desto größer ist ebenfalls der Radius. Bemerkenswert ist, daß sich für die Sol-Fraktion 2 der Radius über den gesamten Peakbereich, der auch für die Bestimmung der Molmasse verwendet wurde, auswerten läßt wohingegen dies für die Sol-Fraktion 1 nicht der Fall ist. Die ermittelten Exponenten  $\nu$  der  $R_G$ -M-Beziehung liegen alle im gleichen Größenbereich und stimmen mit denen der anderen Versuchsreihe gut überein.

*Tabelle 5.4.2.2-4 Ergebnisse aus den SEC-Messungen der Probe HES B  $\beta$  und deren Fraktionen hinsichtlich des Radius. Angegeben sind der z-statistische Radius  $R_{G_z}$ , der Exponent der  $R_G$ -M-Beziehung  $\nu$ , die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  des ausgewerteten Peakbereiches sowie die Wiederfindungsrate WR dieses Bereiches.*

Probenbezeichnung	$R_{G_z}$ (nm)	$\nu$	$M_w$ (g/mol)	WR (%)
HES B $\beta$	19,0	0,46	477.000	95,1
HES B $\beta$ Sol 1	12,9	0,46	307.000	64,0
HES B $\beta$ Sol 2	11,9	0,41	215.000	86,7
HES B Gel 1	20,5	0,45	895.000	93,2
HES B $\beta$ Gel 2	21,7	0,43	1.024.000	95,0

**Abbildung 5.4.2.2-10** zeigt den differentiellen Verlauf des Radius der Probe HES B  $\beta$  und deren Fraktionen. Hier wird der bimodale Charakter der Ausgangsprobe deutlich und ist auch bei den Sol-Phasen noch zu erkennen. Der Verlauf von HES B  $\beta$  Sol 1 ist erwartungsgemäß abgeschnitten, da nur ein Teil des Peaks bezüglich des Radius ausgewertet werden konnte.

Die niedermolekulare Ausgangsprobe HES C wurde analog zur Probe HES B  $\alpha$  mittels CPF fraktioniert.

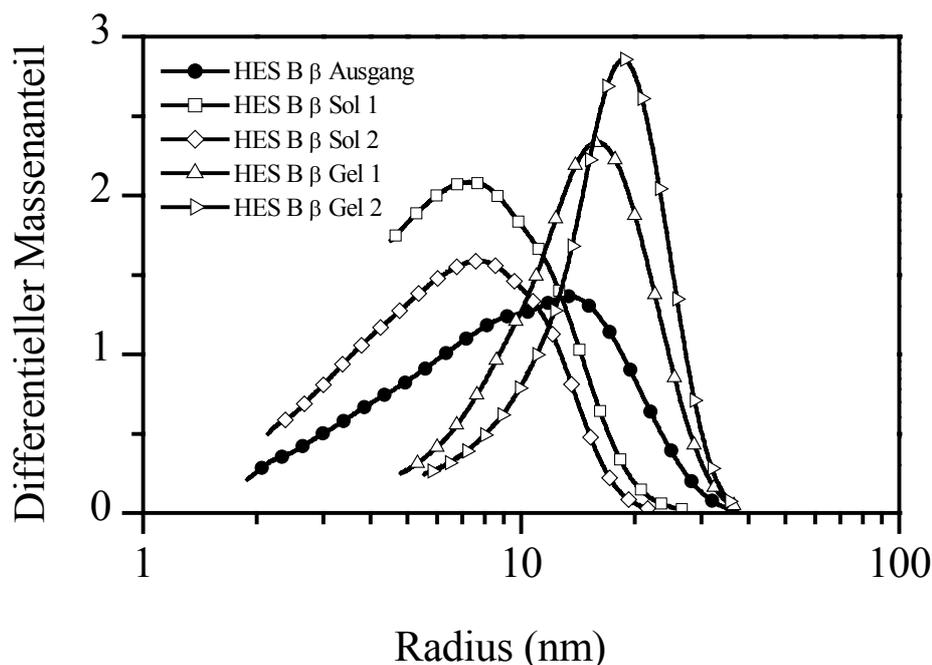


Abbildung 5.4.2.2-10 Differenzieller Verlauf des Radius von Probe HES B  $\beta$  und deren Fraktionen.

In **Tabelle 5.4.2.2-5** sind die Ergebnisse der SEC-Messungen bezüglich der Molmasse dargestellt.

*Tabelle 5.4.2.2-5 Ergebnisse der HES C und deren Fraktionen Sol 1 und 2 sowie Gel 1 und 2 bezüglich der zahlenmittleren Molmasse  $M_n$ , der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  und der z-statistischen Molmasse  $M_z$ , sowie der Polydispersität  $M_w/M_n$  und der Wiederfindungsrate WR.*

Probenbezeichnung	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)
HES C	40.000	186.000	487.000	4,7	93,6
HES C Sol 1	12.000	24.000	77.000	2,0	85,6
HES C Sol 2	23.000	60.000	207.000	2,7	87,9
HES C Gel 1	88.000	229.000	482.000	2,6	91,1
HES C Gel 2	165.000	311.000	513.000	1,9	91,3

Auch mit dieser Fraktionierung wurde erwartungsgemäß eine Verringerung der Polydispersitäten der fraktionierten Proben gegenüber der Ausgangsprobe erzielt. In **Abbildung 5.4.2.2-11** ist der Verlauf der Konzentrationssignale der Proben dargestellt. Die Gel-Fractionen zeigen einen monomodalen Konzentrationsverlauf. Die Ausgangs-

probe und die Sol-Fractionen zeigen einen multimodalen Verlauf. Auffallend ist bei dieser Probe mit geringer Molmasse als die andere Ausgangsprobe HES B, daß auch hier ein niedermolekularer Peak kurz vor dem Salzpeak auftritt. Dieser ist auch bei den Sol-Fractionen vorhanden. Des weiteren sind zum niedermolekularen Bereich noch zwei schwach ausgeprägte Schultern zu sehen.

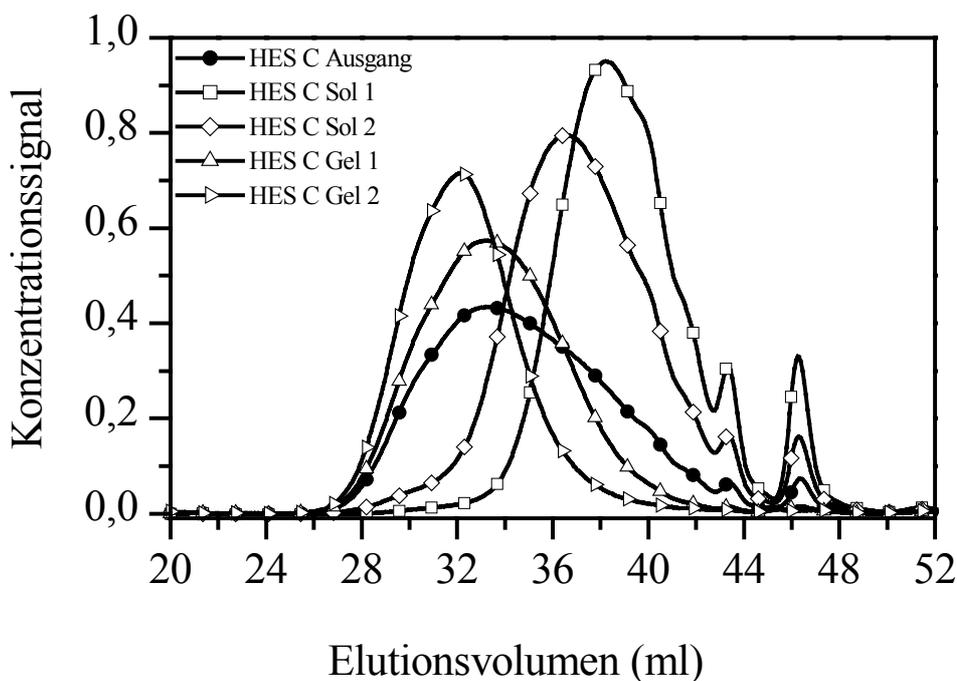


Abbildung 5.4.2.2-11 Verlauf der Konzentrationssignale der Probe HES C und deren Fraktionen.

Die Streulichtsignale der Proben zeigen bei den Gel-Fractionen aber auch bei der Ausgangsprobe nur einen monomodalen Verlauf. Bei den Sol-Fractionen ist hier jedoch zu höheren Molmassen eine Schulter, wie in **Abbildung 5.4.2.2-12** dargestellt, zu sehen. Diese Schulter kann jedoch wegen der geringen Konzentration nicht separat ausgewertet werden.

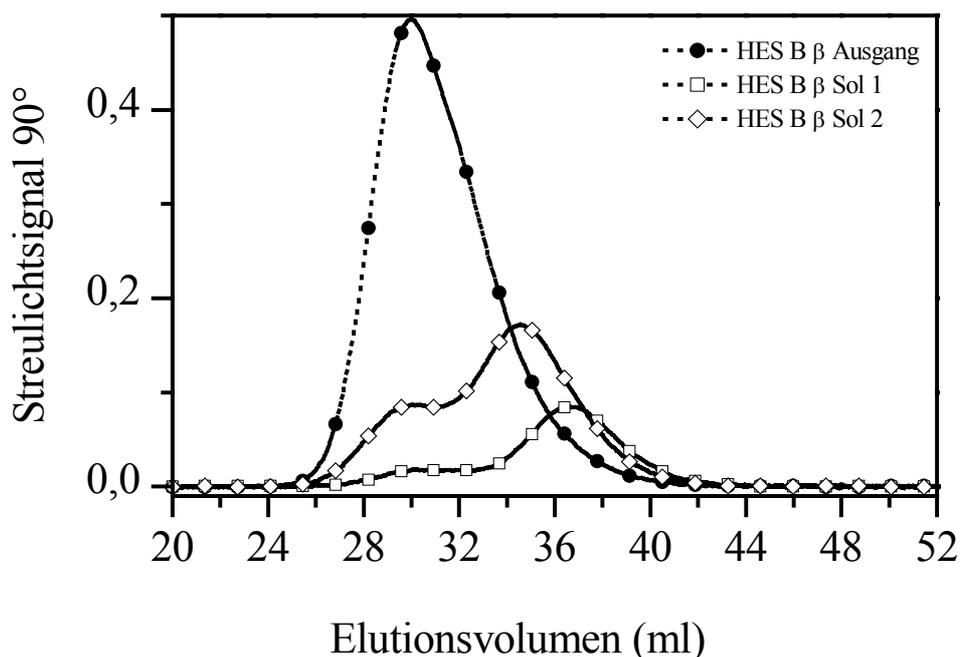


Abbildung 5.4.2.2-12 Verlauf der Streulichtsignale bei  $90^\circ$  der Probe HES C und deren Sol-Fractionen.

In der differentiellen Darstellung in **Abbildung 5.4.2.2-13** der Molmassenverteilungen ist für die Sol-Fractionen und die Ausgangsprobe die Multimodalität hinsichtlich der niedermolekularen Bestandteile gut zu erkennen. Für die Sol-Fractionen ist ebenso zu sehen, daß diese Fractionen einen Anteil an hochmolekularen Bestandteilen enthält, die fast die Molmassenwerte der Gelfractionen erreichen. Diese hochmolekularen Bestandteile sind auch schon durch den Schulterbereich im Streulichtsignal zu erkennen.

Die Ergebnisse der Messungen bezüglich der Radien sind in **Tabelle 5.4.2.2-6** aufgeführt. Bei allen Proben mußte eine Einschränkung des Peakbereichs vorgenommen werden, da die niedermolekularen Bestandteile für eine Detektion zu klein sind. Die erhaltenen Trägheitsradien liegen an der unteren Nachweisgrenze. Von der Sol-Fraktion 1 ließen sich die Radien nicht bestimmen. Nur ein sehr kleiner Anteil der Sol-Fraktion 2 konnte ausgewertet werden. Die Korrelation zwischen Molmasse und Radius ist bezüglich Ausgangsprobe und Gel-Fraktion 1 umgekehrt zu den theoretisch zu erwartenden Ergebnissen. Dies kann daran liegen, daß von der Ausgangsprobe ein wesentlich geringerer Bereich ausgewertet worden ist als von der Gel-Fraktion 1. Da von allen Proben nur Teile ausgewertet wurden, wird hier auf eine Abbildung verzichtet. Die

Exponenten  $\nu$  der  $R_G$ - $M$ -Beziehung liegen im gleichen Bereich wie auch bei den vorher vorgestellten Probensätzen.

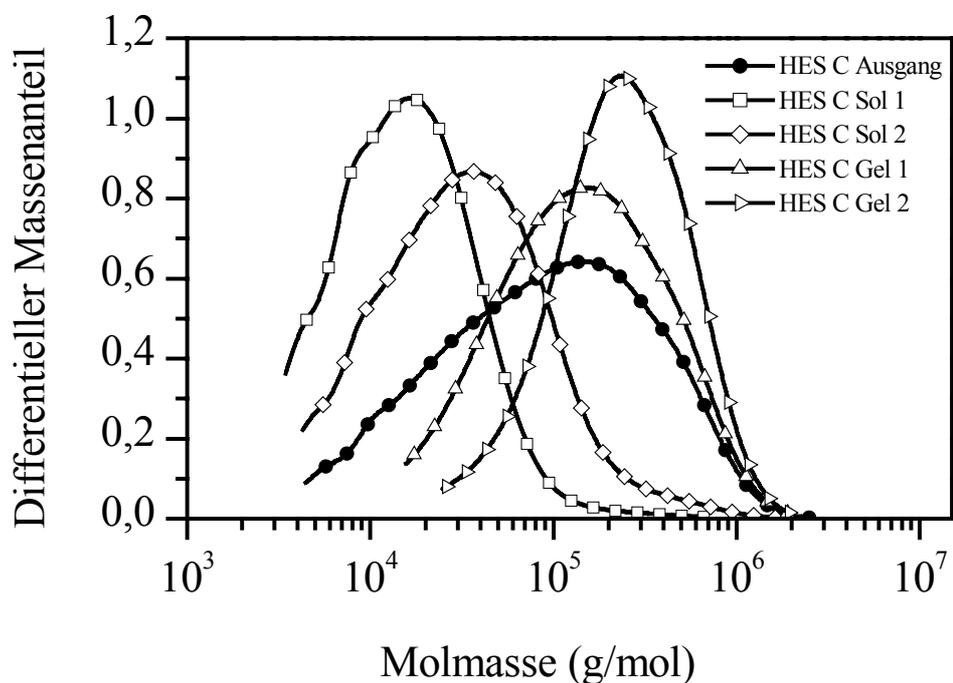


Abbildung 5.4.2.2-13 Differentielle Molmassenverteilung der Proben HES C und deren Fraktionen.

Tabelle 5.4.2.2-6 Ergebnisse aus den SEC-Messungen der Probe HES B  $\beta$  und deren Fraktionen hinsichtlich des Radius. Angegeben sind der z-statistische Radius  $R_{G_z}$ , der Exponent der  $R_G$ - $M$ -Beziehung  $\nu$ , die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  des ausgewerteten Peakbereiches sowie die Wiederfindungsrate WR dieses Bereiches.

Probenbezeichnung	$R_{G_z}$ (nm)	$\nu$	$M_w$ (g/mol)	WR (%)
HES C	11,6	0,44	250.000	67,5
HES C Sol 2	9,8	0,43	137.000	27,6
HES C Gel 1	11,4	0,47	271.000	75,1
HES C Gel 2	12,0	0,43	332.000	84,3

Von den Proben, bei denen sich die Radien bestimmen ließen, wurden die  $R_G$ - $M$ -Beziehungen aufgestellt und mittels der Fox-Flory-Theorie die  $[\eta]$ - $M$ -Beziehungen

berechnet. Als Fox-Flory-Konstante  $\Phi'$  wurde ein Wert von  $3,69 \cdot 10^{24} \text{ mol}^{-1}$  verwendet<sup>5</sup>. Die Ergebnisse der Berechnungen sind für die einzelnen Proben in den nachfolgenden **Tabellen 5.4.2.2-7 bis 5.4.2.2-9** dargestellt.

*Tabelle 5.4.2.2-7  $R_G$ -M-Beziehungen aus den SEC-Messungen und die mittels der Fox-Flory-Theorie berechneten  $[\eta]$ -M-Beziehungen der Probenreihe HES B  $\alpha$ .*

Probe	$R_G$ -M-Beziehung $R_G = k_R \cdot M^\nu$	$[\eta]$ -M-Beziehung $[\eta] = k_\eta \cdot M^a$
HES B $\alpha$	$R_G = 4,55 \cdot 10^{-2} \cdot M^{0,47}$	$[\eta] = 6,54 \cdot 10^{-1} \cdot M^{0,40}$
HES B $\alpha$ Sol 2	$R_G = 4,98 \cdot 10^{-2} \cdot M^{0,45}$	$[\eta] = 1,02 \cdot 10^0 \cdot M^{0,35}$
HES B $\alpha$ Gel 1	$R_G = 5,38 \cdot 10^{-2} \cdot M^{0,44}$	$[\eta] = 8,51 \cdot 10^{-1} \cdot M^{0,33}$
HES B $\alpha$ Gel 2	$R_G = 4,81 \cdot 10^{-2} \cdot M^{0,45}$	$[\eta] = 6,24 \cdot 10^{-1} \cdot M^{0,34}$

*Tabelle 5.4.2.2-8  $R_G$ -M-Beziehungen aus den SEC-Messungen und die mittels der Fox-Flory-Theorie berechneten  $[\eta]$ -M-Beziehungen der Probenreihe HES B  $\beta$ .*

Probe	$R_G$ -M-Beziehung $R_G = k_R \cdot M^\nu$	$[\eta]$ -M-Beziehung $[\eta] = k_\eta \cdot M^a$
HES B $\beta$	$R_G = 6,91 \cdot 10^{-2} \cdot M^{0,44}$	$[\eta] = 2,06 \cdot 10^0 \cdot M^{0,32}$
HES B $\beta$ Sol 1	$R_G = 4,14 \cdot 10^{-2} \cdot M^{0,46}$	$[\eta] = 4,16 \cdot 10^{-1} \cdot M^{0,37}$
HES B $\beta$ Sol 2	$R_G = 9,72 \cdot 10^{-2} \cdot M^{0,41}$	$[\eta] = 1,78 \cdot 10^1 \cdot M^{0,22}$
HES B Gel 1	$R_G = 4,21 \cdot 10^{-2} \cdot M^{0,45}$	$[\eta] = 4,00 \cdot 10^{-1} \cdot M^{0,36}$
HES B $\beta$ Gel 2	$R_G = 6,19 \cdot 10^{-2} \cdot M^{0,43}$	$[\eta] = 1,54 \cdot 10^0 \cdot M^{0,28}$

<sup>5</sup> Yamakawa, H., „*Modern Theory of Polymer Solutions*“, Harpers and Row New York, **1971**

Tabelle 5.4.2.-9  $R_G$ -M-Beziehungen aus den SEC-Messungen und die mittels der Fox-Flory-Theorie berechneten  $[\eta]$ -M-Beziehungen der Probenreihe HES C.

Probe	$R_G$ -M-Beziehung $R_G = k_R \cdot M^\nu$	$[\eta]$ -M-Beziehung $[\eta] = k_\eta \cdot M^a$
HES C	$R_G = 5,32 \cdot 10^{-2} \cdot M^{0,44}$	$[\eta] = 1,13 \cdot 10^0 \cdot M^{0,31}$
HES C Sol 2	$R_G = 6,68 \cdot 10^{-2} \cdot M^{0,43}$	$[\eta] = 2,29 \cdot 10^0 \cdot M^{0,28}$
HES C Gel 1	$R_G = 3,84 \cdot 10^{-2} \cdot M^{0,47}$	$[\eta] = 6,94 \cdot 10^{-1} \cdot M^{0,40}$
HES C Gel 2	$R_G = 5,34 \cdot 10^{-2} \cdot M^{0,43}$	$[\eta] = 1,21 \cdot 10^0 \cdot M^{0,29}$

Die Übereinstimmung liegt im Rahmen der Meßgenauigkeit und in Anbetracht der doch recht kleinen Radien für die  $R_G$ -M-Beziehung sehr gut zusammen. Der Exponent  $\nu$  spiegelt die Verzweigung der Moleküle wieder. Die Abweichungen bezüglich der  $[\eta]$ -M-Beziehungen sind deutlich größer, was zum Teil auch einen Mangel der Theorie widerspiegelt, da diese für lineare Moleküle aufgestellt wurde.

Die Abweichungen von HES B  $\beta$  zu HES B  $\alpha$  sind mit Ausnahme von HES B  $\beta$  Sol 1 und HES B Gel 1 relativ groß. Es ist keine eindeutige Korrelation innerhalb der Probenreihe zu erkennen.

Die Werte der Probenreihe HES C korrelieren besser untereinander als es bei der Probenreihe von HES B  $\beta$  der Fall war. Die Werte stimmen aber besser mit den Ergebnissen von HES B  $\beta$  überein als mit denen von HES B  $\alpha$ . Auch die  $[\eta]$ -M-Beziehungen geben ein einheitlicheres Bild ab, als dies bei den anderen beiden Probenreihen der Fall war. Man sollte jedoch beachten, daß bei dieser Probenreihe nie der gesamte Peak bezüglich des Radius ausgewertet wurde.

## 5.5 Untersuchungen an Acetylstärke

Der chemische Aufbau und die Synthese von Acetylstärke (AS) ist in Kapitel 2.4.2 Acetylstärke beschrieben worden.

Acetylstärke wird heutzutage als eine Alternative zu Hydroxyethylstärke in seiner Verwendung als Blutplasmaersatzstoff zunehmend diskutiert. Wie in Kapitel 3.2 Acetylstärke als alternatives Blutplasmaersatzmittel beschrieben, ist bei der Acetylstärke im

Gegensatz zur Hydroxyethylstärke eine vollständige Metabolisierbarkeit im menschlichen Körper gegeben. Da mit der Acetylstärke die gleichen positiven Eigenschaften wie mit der Hydroxyethylstärke verbunden sind und darüber hinaus durch die Metabolisierbarkeit Nebenreaktionen wie etwa der langanhaltende Juckreiz, der wahrscheinlich durch Speicherung von HES hervorgerufen wird, ausgeschlossen sein sollen, stellt dieses Produkt ein interessantes Mittel für den klinischen Einsatz dar. Die standardmäßig synthetisierte AS hat jedoch verglichen mit der HES ein anderes Substitutionsmuster. Die Lagerstabilität dieser Substanzen ist bedingt durch Abspaltung von Acetylresten aus dem Makromolekül nicht so hoch wie die von HES. Bei der HES ist überwiegend die Position C-2 substituiert. In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Heinze, Universität Jena/Wuppertal, wurde überwiegend in Position C-2 substituierte AS hinsichtlich ihrer Lagerstabilität in Lösung untersucht.

Von den Acetylstärken standen vier Proben zur Verfügung. Diese wurden von Frau Dr. V. Haack, Arbeitsgruppe Prof. Dr. Heinze, Universität Jena, aus den enzymatisch abgebauten Wachsmaisstärken (Kapitel 5.3 Untersuchungen an Wachsmaisstärke) durch Acetylierung überwiegend in 2-Position hergestellt. In **Tabelle 5.5-1** ist eine Übersicht über die Proben hinsichtlich der aus SEC/MALLS/RI-Messungen bestimmten gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$ , der Polydispersität  $M_w/M_n$ , den von Frau Dr. Haack ermittelten Substitutionsgraden  $DS_{Ac}$  und des Trockengehaltes gegeben.

*Tabelle 5.5-1 Übersicht über die in 2-O-Stellung acetylierten WMS mit der gewichtsmittleren Ausgangsmolmasse  $M_w$ , der Polydispersität  $M_w/M_n$ , dem Substitutionsgrad  $DS_{Ac}$  sowie dem Trockengehalt.*

Probe	Ausgangsmolmasse $M_w$ (g/mol)	Ausgangspolydispersität $M_w/M_n$	$DS_{Ac}$	Trockengehalt (%)
AS 1/8/00	517.000	4,9	0,86	97,65
AS 4/8/00	709.000	6,3	0,91	97,55
AS 16/8/00	263.000	3,3	0,82	93,25
AS 18/8/00	152.000	2,6	0,94	92,55

Zur Überprüfung der Lagerstabilität wurden von jeder Probe je zwei Vergleichslösungen in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid (Bakterizid) und je zwei Vergleichslösungen in abgekochtem, bidestilliertem Wasser hergestellt. Die Konzentration

dieser Lösungen betrug etwa 6 %. Die Proben wurden einmal wöchentlich mittels SEC/MALLS/RI vermessen, wobei jeweils etwas Probelösung abgenommen und auf eine 1 %ige Lösung verdünnt wurde. Des weiteren wurden einmal monatlich von den in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Proben viskosimetrische Messungen zur Bestimmung des Staudinger-Indizes  $[\eta]$  durchgeführt. Die niedermolekulareren Proben AS 16/8/00 und AS 18/8/00 wurden in D<sub>2</sub>O gelöst und einmal monatlich mittels <sup>13</sup>C-NMR vermessen, um etwaige strukturelle Unterschiede festzustellen. Darüber hinaus wurde von den Originalproben AS 16/8/00 und AS 18/8/00 sowie von den über 109 Tage in Wasser gelagerten Proben, die zunächst gefriergetrocknet wurden, ein gated <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum aufgenommen, daß es gestattet, den Substitutionsgrad zu bestimmen. Da zur Bestimmung der Molmasse und der Molmassenverteilung das Brechungsindexinkrement bekannt sein muß, wurde von allen Proben ebenfalls das Brechungsindexinkrement bestimmt.

### Bestimmung des Brechungsindexinkrementes

Von den Acetylstärken wurde in Mehrfachbestimmungen das Brechungsindexinkrement in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid ermittelt. Hierbei ergaben sich die in **Tabelle 5.5-2** dargestellten Werte für die einzelnen Proben. Die Werte stimmen überein und zeigen keinerlei Abhängigkeit von der Molmasse oder dem Substitutionsgrad DS.

*Tabelle 5.5-2 Ergebnisse der Bestimmungen des Brechungsindexinkrementes der einzelnen Acetylstärken mit Angabe der gewichtsmittleren Ausgangsmolmasse  $M_w$ .*

Probe	$M_w$ (g/mol)	DS <sub>Ac</sub>	$(dn/dc)$ (ml/g)	Abweichung $(dn/dc)$ (ml/g)
AS 1/8/00	517.000	0,86	0,1412	0,0001
AS 4/8/00	709.000	0,91	0,1411	0,0003
AS 16/8/00	263.000	0,82	0,1410	0,0001
AS 18/8/00	152.000	0,94	0,1409	0,0004

Insgesamt geben diese Werte einen Mittelwert von  $(0,1411 \pm 0,0002)$  ml/g. Für die Auswertungen der SEC/MALLS/RI-Messungen wurde mit einem Wert von 0,141 ml/g gearbeitet.

### Lagerstabilitätsüberprüfung mittels SEC/MALLS/RI-Messungen

Allen acetylierten Proben ist gemeinsam, daß im Konzentrationssignal nach dem Salzpeak ein weiterer Peak auftritt, der im folgenden als Acetatpeak bezeichnet wird, da die Lage identisch mit einem Peak ist, der durch Einspritzen einer Natriumacetatlösung an gleicher Stelle erscheint. In der Arbeit von S. Knop<sup>6</sup>, die wäßriger Acetat-Puffer-Lösung gearbeitet hat, ist die Lage des Acetatpeaks an gleicher Stelle bestimmt worden. Über den Acetatpeak wurde separat integriert, so daß die relative Wiederfindungsrate angegeben werden kann. Dadurch kann man Unterschiede in der Konzentration bei diesem Peak bei den unterschiedlichen Lösungen feststellen.

Lagerstabilität der Probe AS 1/8/00

Die Ausgangsprobe AS 1/8/00 weist eine gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  von 517.000 g/mol mit einer Polydispersität  $M_w/M_n$  von 4,9 auf.

Der Verlauf des Konzentrationssignals sowohl der Ausgangsprobe als auch aller Proben in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösungen mit 200 ppm Natriumazid ist bimodal, wobei hier eine Schulter bei ca. 31 ml Elutionsvolumen (**Abbildung 5.5-1**) auftritt. Der Verlauf der Molmasse aller Messungen liegt auf einer Geraden, so daß davon ausgegangen werden kann, daß in Übereinstimmung mit der Kalibrierung mit Pullulan- und Dextranstandards weder Größenausschluß noch sonstige Wechselwirkungen mit dem Säulenmaterial auftreten. Der Verlauf der Molmasse sowie des Konzentrationssignals gegen das Elutionsvolumen ist in **Abbildung 5.5-1** dargestellt.

Das Lichtstreuungssignal der Probe ist über den Elutionsbereich monomodal. Daher kann die Probe über den Elutionsbereich nur geschlossen ausgewertet werden. Die Konzentrations- und Streulichtsignalverläufe der gelagerten Proben sind identisch in der Form der Peaks; die Peakmaxima des Streulichtsignals sind mit längerer Lagerungsdauer – wie in **Abbildung 5.5-2** zu sehen - leicht zu höheren Elutionsvolumina verschoben.

In **Tabelle 5.5-3** sind die Ergebnisse der Messungen nach den Lagerungszeiten bezüglich der verschiedenen Molmassenmittelwerte, der Polydispersität, der Wiederfindungsraten insgesamt und der Wiederfindungsraten unter dem Acetatpeak angegeben.

---

<sup>6</sup> Knop, S., „*Synthese und Charakterisierung von Symplex-Membranen zur Pervaporation von Alkohol-Wasser-Mischungen*“, Dissertation Universität Hamburg, 2000.

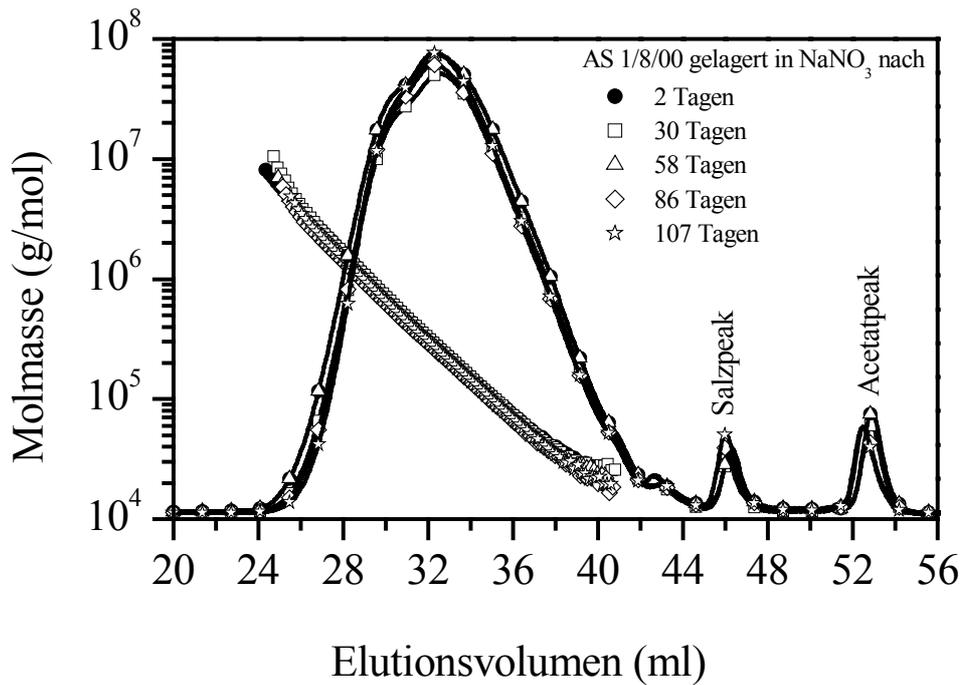


Abbildung 5.5-1 Verlauf von Molmasse und Konzentrationssignal gegen das Elutionsvolumen der Probe AS 1/8/00 gelagert in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid nach verschiedenen langen Lagerungszeiten.

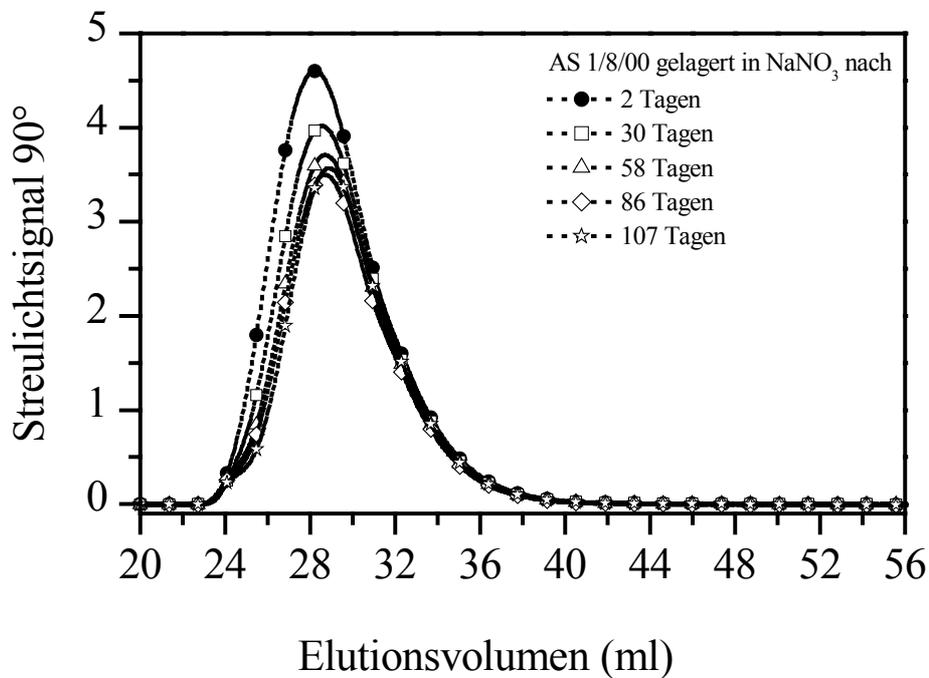


Abbildung 5.5-2 Verlauf der Streulichtsignale bei  $90^\circ$  gegen das Elutionsvolumen der Probe AS /8/00 gelagert in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid in Abhängigkeit der Lagerungszeit.

*Tabelle 5.5-3 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 1/8/00 hinsichtlich der Molmassenmittelwerte, der Polydispersität, der Wiederfindungsraten und der Wiederfindungsraten des Acetatpeaks.*

Lagerungsdauer (Tagen)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)	WR <sub>Ac</sub> (%)
2	105.000	517.000	1.482.000	4,9	85,3	2,14
8	95.000	501.000	1.444.000	5,3	86,5	2,11
16	93.000	493.000	1.429.000	5,3	86,3	2,20
23	105.000	491.000	1.377.000	4,7	84,5	2,13
30	95.000	471.000	1.320.000	5,0	87,2	2,13
37	93.000	459.000	1.259.000	4,9	86,6	2,14
44	89.000	451.000	1.229.000	5,1	86,7	2,10
51	94.000	444.000	1.181.000	4,7	85,7	2,14
58	97.000	432.000	1.148.000	4,5	85,8	2,14
65	91.000	430.000	1.145.000	4,5	86,9	2,17
72	95.000	424.000	1.093.000	4,5	86,6	2,17
79	103.000	421.000	1.078.000	4,1	85,3	2,09
86	90.000	398.000	1.012.000	4,4	86,1	2,15
93	92.000	399.000	1.005.000	4,4	87,5	2,13
100	90.000	393.000	987.000	4,4	87,0	2,12
107	94.000	394.000	965.000	4,2	86,8	2,13

Über einen Zeitraum von 107 Tagen Lagerung geht die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  auf einen Wert von 394.000 g/mol zurück. Hierbei zeigen beide Vergleichslösungen ein identisches Abbauverhalten. Die Polydispersität nach 107 Tagen beträgt 4,2. Damit nimmt die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  auf einen Wert von 76 % der ursprünglichen Ausgangsmolmasse ab, die Polydispersität verringert sich auf einen Wert von 85 % des Ausgangswertes. Da beide Vergleichslösungen gleiches Verhalten bezüglich der Molmassen nach gleicher Lagerungsdauer aufweisen, kann man von einem kontrollierten Abbauverhalten ausgehen. Anhand der differentiellen und kumulativen Molmassenverteilungen (**Abbildung 5.5-3 und 4**) ist zu sehen, daß der Abbau in der hochmolekularen Flanke der Probe erfolgt. Die Werte der niedermolekularen Bestandteile bleiben annähernd gleich, was sich auch in der geringeren Polydispersität widerspiegelt. Anhand

der differentiellen Molmassenverteilung ist auch die Bimodalität der Probe zu erkennen, wobei die Ausprägung der Bimodalität mit längerer Lagerungszeit abnimmt.

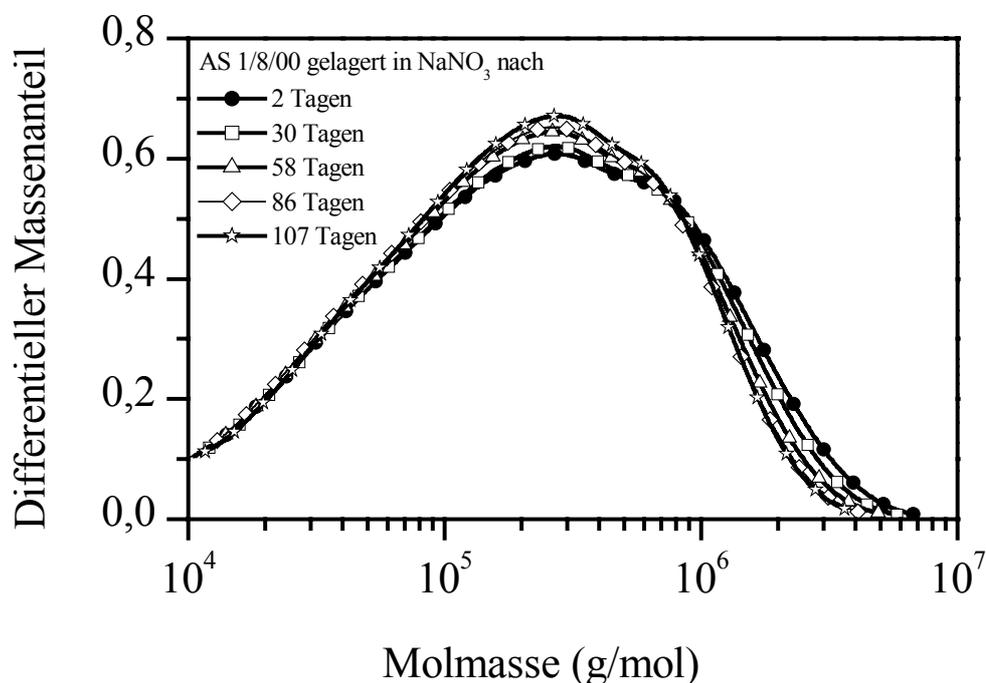


Abbildung 5.5-3 Differentielle Molmassenverteilung der Probe AS 1/8/00 gelagert in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid nach verschieden langen Lagerungszeiten.

Die Werte der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  nähern sich nach ca. 86 Tagen Lagerung einem Grenzwert von etwas unter 400.000 g/mol an. Bis zu diesem Wert verhält sich die Abnahme der Molmasse exponentiell. In **Abbildung 5.5-5** sind die normierten gewichtsmittleren Molmassen gegen die Lagerungsdauer aufgetragen. Die Werte der gegen die Ausgangsmolmasse normierten gewichtsmittleren Molmassen lassen sich mit einem exponentiellen Fit erster Ordnung anpassen. Als Fehler wurden Abweichungen von bis zu 10% angenommen, was durch die Fehlerbalken dargestellt ist.

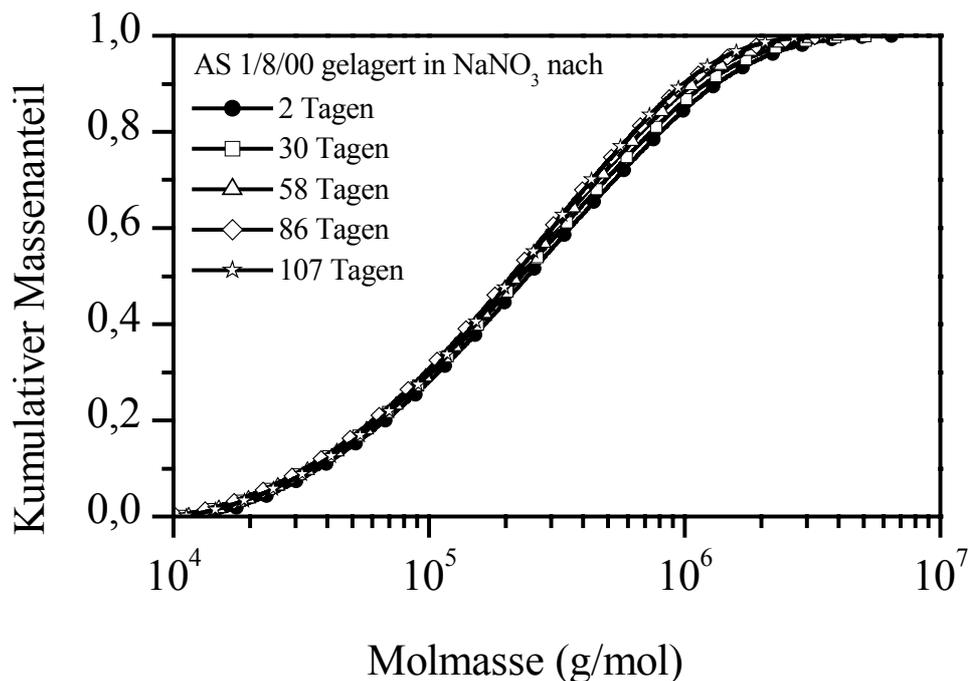


Abbildung 5.5-4 Kumulative Molmassenverteilung der Probe AS 1/8/00 gelagert in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid nach verschiedenen langen Lagerungszeiten.

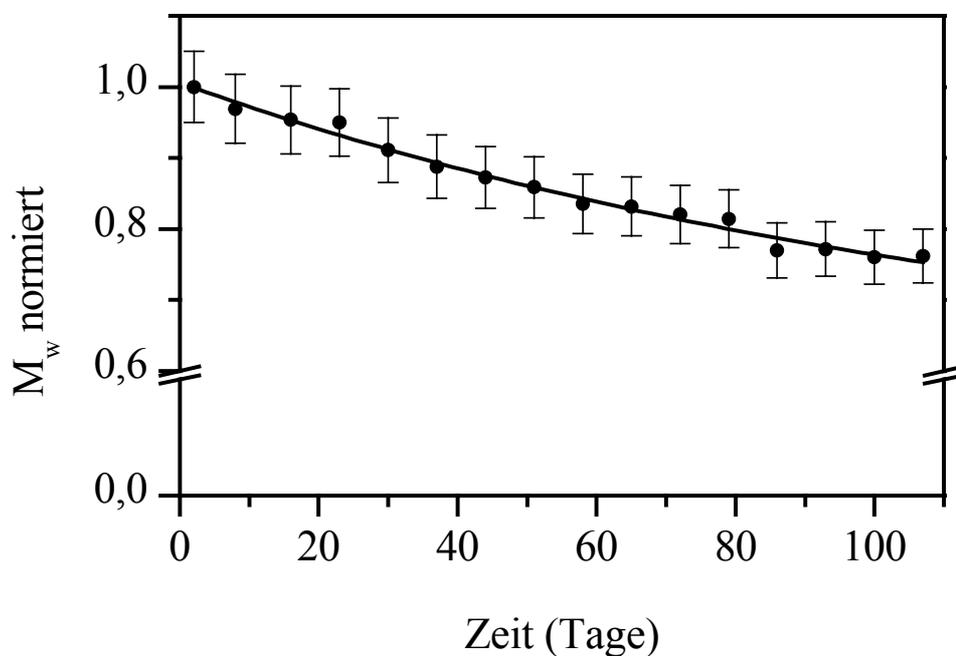
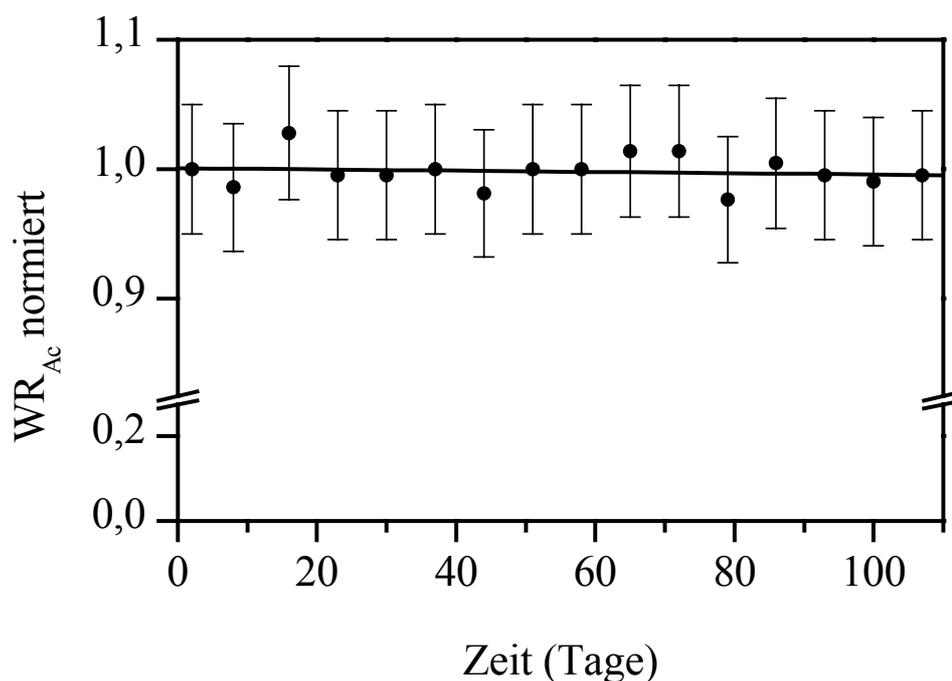


Abbildung 5.5-5 Darstellung des gegen die Ausgangsmolmasse normierten Abbauverhaltens der in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 1/8/00.

Die Wiederfindungsrate unter dem Acetatpeak ist im Rahmen der Meßgenauigkeit konstant. Die Werte der Wiederfindungsraten der Konzentrationen unter dem Acetatpeak wurden ebenfalls gegen den Wert, der bei der Messung der Ausgangsprobe ermittelt wurde, normiert und sind in **Abbildung 5.5-6** gegen die Lagerungsdauer aufgetragen. Auch hier wurde ein Fehler von 10 % angenommen. Alle Werte liegen innerhalb der Fehlergrenzen bei einem Wert von eins, so daß man davon ausgehen kann, daß sich während der Lagerung kein freies Acetat gebildet hat.



*Abbildung 5.5-6 Auftragung der normierten Wiederfindungsrate der Konzentration unter dem Acetatpeak der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 1/8/00.*

Die in reinem Wasser gelagerte Probe AS 1/8/00 ergibt nach zweitägiger Lagerung eine gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  von 507.000 g/mol, was in guter Übereinstimmung mit dem Wert der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung angesetzten Probe steht. Die Polydispersität  $M_w/M_n$  hat einen Wert von 4,8, was leicht unterhalb der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung angesetzten Probe liegt. Man muß hierbei aber auch in Betracht ziehen, daß die Polydispersität durch den Quotienten der gewichtsmittleren und der zahlenmittleren Molmasse gebildet wird und die Bestimmung insbesondere der kleinen Molmassen, die maßgeblich den Wert der zahlenmittleren Molmasse beeinflussen, mit

relativ großen Fehlern behaftet ist, so daß man im Rahmen der Meßgenauigkeit von einer recht guten Übereinstimmung ausgehen kann. Die gewichtsmittlere Molmasse dieser Probe in Wasser nimmt recht schnell ab, wobei die beiden Vergleichslösungen keinen gemeinsamen Gang aufweisen. Nach 37 Tagen Lagerung sind die Unterschiede in den Molmassen so groß, daß man nicht mehr von Abweichungen, die durch das Experiment bedingt sind, ausgehen kann. Daher sind die erhaltenen Werte für beide Vergleichslösungen in **Tabelle 5.5-4** separat aufgeführt. Die Vergleichslösung 2 erreicht Werte für die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  von deutlich unter 400.000 g/mol, der Wert nach 107 Tagen Lagerung liegt für Vergleichslösung 2 bei 366.000 g/mol, wohingegen Vergleichslösung 1 nur auf einen Wert von 388.000 g/mol absinkt und dies auch der einzige Wert dieser Lösung unter 400.000 g/mol ist. Bei Vergleichslösung 2 wird schon nach 51 Tagen eine gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  von unter 400.000 g/mol erreicht. Für beide Vergleichslösungen ist auffallend, daß die Werte der Polydispersität zwar schwanken, aber sich kein Trend hinsichtlich einer Verringerung der Polydispersität einstellt. Wie aber bei der in Natriumnitratlösung gelagerten Probe nimmt jedoch auch bei der in Wasser gelagerten Lösung die zahlenmittlere Molmasse nicht erkennbar ab, sondern sie liegt - wenn auch mit größeren Schwankungen als bei der in Natriumnitratlösung gelagerten Probe - innerhalb der Bestimmungsbreite bei einem konstanten Wert um 100.000 g/mol. In **Abbildung 5.5-7** ist die Abnahme der normierten gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  der beiden Lösungen dargestellt. Beide Lösungen nehmen in der Molmasse exponentiell ab. Anhand der Abbildung ist deutlich der schnellere Abbau der Vergleichslösung 2 zu erkennen.

*Tabelle 5.5-4 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der in reinem Wasser gelagerten Probe AS 1/8/00, Vergleichslösung 1 ist grau hinterlegt.*

Lagerungsdauer (Tagen)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)	WR <sub>Ac</sub> (%)
2	106.000	506.000	1.414.000	4,8	85,0	1,99
	105.000	507.000	1.429.000	4,8	85,3	1,98
8	96.000	484.000	1.376.000	5,1	86,7	1,95
	96.000	479.000	1.336.000	5,0	86,8	1,95
16	95.000	461.000	1.252.000	4,9	86,7	1,95
	94.000	457.000	1.231.000	4,9	86,7	1,99
23	105.000	452.000	1.219.000	4,3	85,8	1,98
	106.000	454.000	1.225.000	4,3	84,9	1,92
30	88.000	430.000	1.154.000	4,9	86,8	1,95
	89.000	425.000	1.118.000	4,8	87,1	1,93
37	95.000	431.000	1.126.000	4,5	86,9	1,94
	94.000	416.000	1.072.000	4,4	86,3	1,95
44	89.000	426.000	1.120.000	4,8	86,8	1,90
	86.000	406.000	1.061.000	4,7	87,8	1,90
51	98.000	426.000	1.114.000	4,5	85,4	1,95
	87.000	395.000	1.017.000	4,5	87,2	1,93
58	92.000	422.000	1.114.000	4,6	85,8	1,90
	95.000	391.000	985.000	4,1	88,5	1,90
65	81.000	421.000	1.142.000	5,2	87,5	1,98
	88.000	386.000	954.000	4,4	87,6	1,98
72	94.000	423.000	1.105.000	4,5	86,3	1,90
	90.000	380.000	935.000	4,2	87,4	1,95
79	83.000	419.000	1.121.000	5,0	87,3	1,98
	98.000	384.000	953.000	3,9	86,2	1,94
86	87.000	404.000	1.050.000	4,6	85,9	1,85
	101.000	376.000	908.000	3,7	85,5	1,89
93	86.000	402.000	1.036.000	4,7	87,5	1,97
	93.000	374.000	915.000	4,0	88,0	1,98
100	97.000	401.000	1.027.000	4,1	85,4	1,98
	92.000	367.000	900.000	4,0	86,6	1,96
107	79.000	388.000	1.006.000	4,9	85,8	1,96
	83.000	366.000	904.000	4,4	88,4	1,95

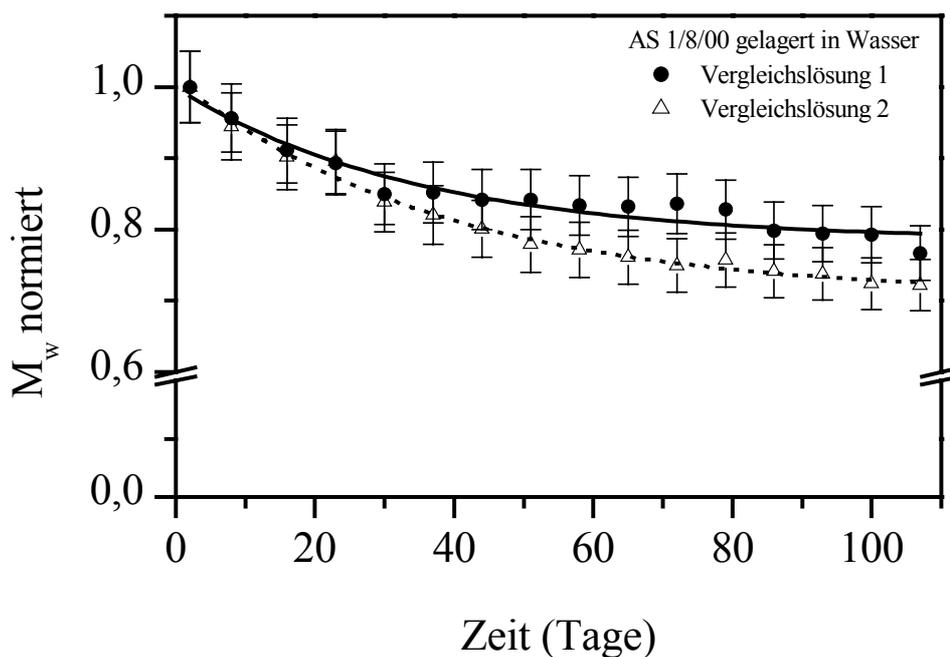


Abbildung 5.5-7 Auftragung der normierten gewichtsmittleren Molmasse gegen die Lagerungsdauer der Vergleichslösungen 1 und 2 der in Wasser gelagerten Probe AS 1/8/00. Beide Wertereihen wurden mit einer exponentiellen Fit erster Ordnung angepasst.

Die Verläufe der Konzentrations- und Streulichtsignale sehen in Ihrem Erscheinungsbild wie die der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe aus. In **Abbildung 5.5-8** ist die Molmasse sowie das Konzentrationssignal gegen das Elutionsvolumen nach unterschiedlich langer Lagerungsdauer dargestellt. Im Konzentrationssignal ist die Schulter zu hochmolekularen Bestandteilen zu sehen, die auch bei der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe zu erkennen war. Die Molmassen der einzelnen Messungen bilden wiederum eine Gerade.

Im Streulichtsignal ist – wie in **Abbildung 5.5-9** dargestellt – eine Verschiebung des Peakmaximums zu höheren Elutionsvolumina mit längerer Lagerungszeit zu erkennen. Der Verlauf des Streulichtsignals ist monomodal.

Die Darstellung der differentiellen Molmasse (**Abbildung 5.5-10**) zeigt die Bimodalität der Probe. In der Abbildung ist ebenfalls zu erkennen, daß der Abbau der Molmasse überwiegend im Bereich der hochmolekularen Flanke stattfindet.

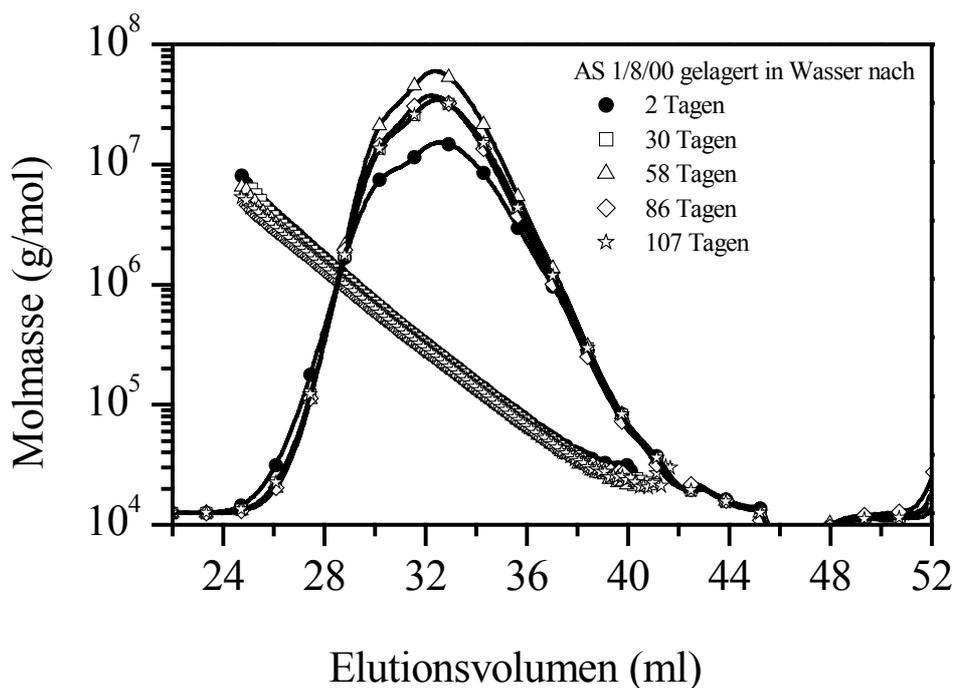


Abbildung 5.5-8 Verlauf von Molmasse  $M_W$  und Konzentrationssignal (durchgezogene Linie) gegen das Elutionsvolumen der in Wasser gelagerten Probe AS 1/8/00 nach verschiedenen Lagerungszeiten. Für die Graphik wurden die Messungen der Vergleichslösung 2 herangezogen.

Beide in reinem Wasser gelagerten Vergleichslösungen zeigen - wie auch die in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerte Probe - einen Acetatpeak bei rund 53 ml Elutionsvolumen. Dieser Peak wurde hinsichtlich seiner Konzentration integriert und nach der Wiederfindung ausgewertet. Über den gesamten Zeitraum der Lagerung erweist sich die Wiederfindungsrate unter diesem Peak für beide Vergleichslösungen als nahezu konstant. Die normierte Wiederfindungsrate gegen die Lagerungsdauer ist in **Abbildung 5.5-11** abgebildet. Alle Werte der Wiederfindungsraten liegen in einem Bereich um 10 % Fehler um den Ausgangswert.

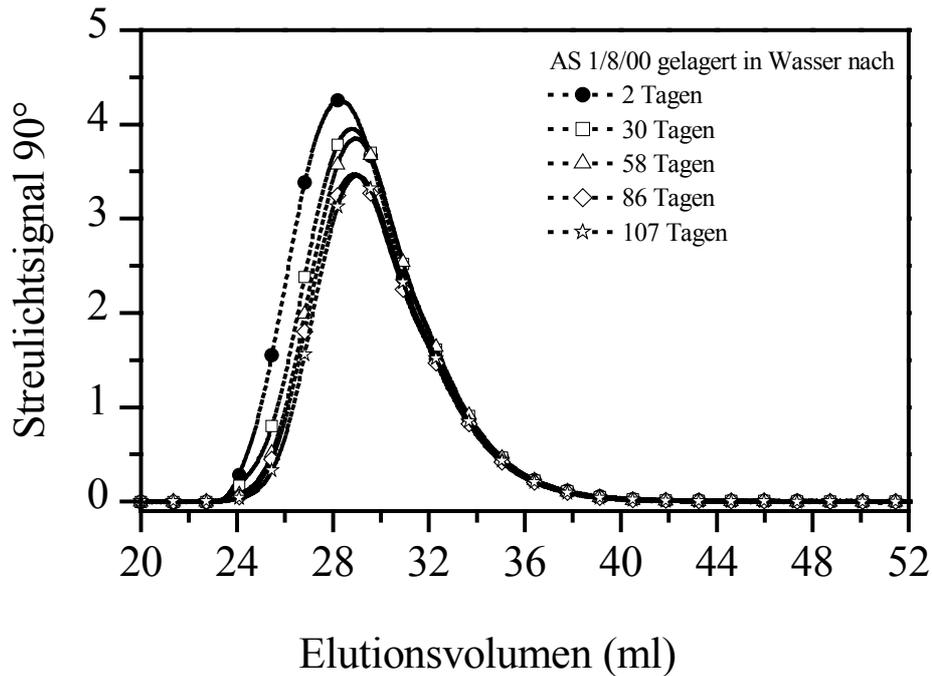


Abbildung 5.5-9 Verlauf der Streulichtsignals gegen das Elutionsvolumen der in Wasser gelagerten Probe AS 1/8/00 nach verschiedenen Lagerungszeiten. Für die Graphik wurden die Messungen der Vergleichslösung 2 herangezogen.

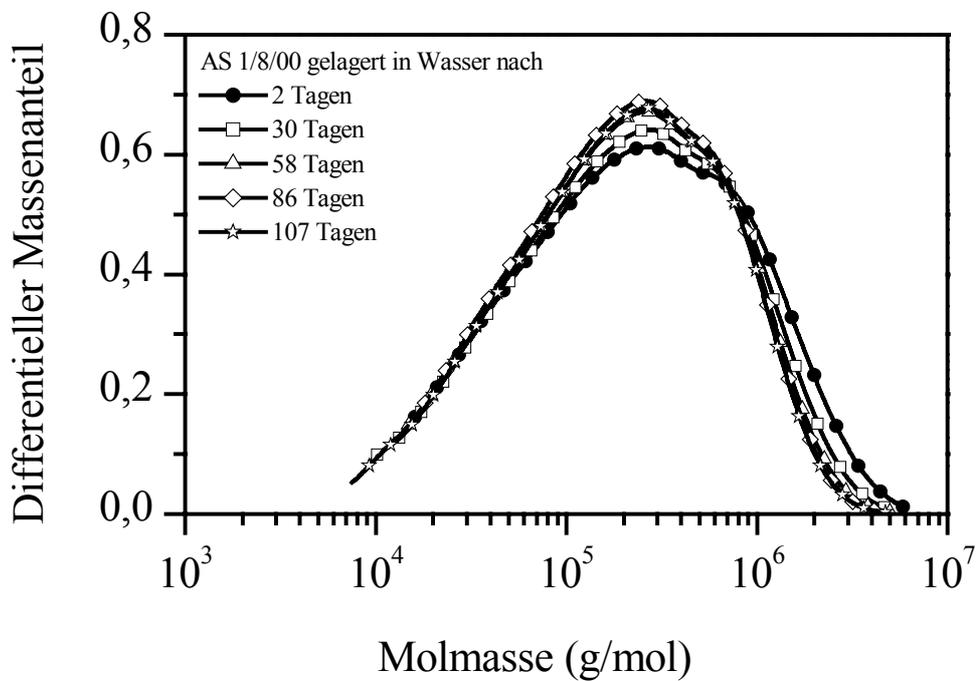


Abbildung 5.5-10 Differentielle Molmassenverteilung der in Wasser gelagerten Probe AS 1/8/00 nach verschiedenen Lagerungszeiten. Für die Graphik wurden die Messungen der Vergleichslösung 2 herangezogen.

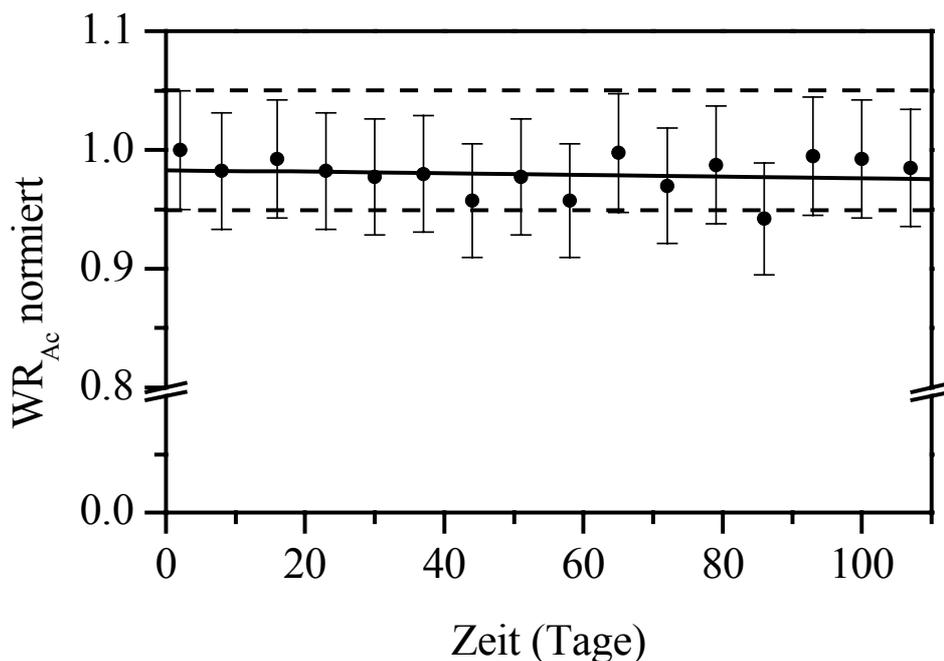


Abbildung 5.5-11 Auftragung der normierten Wiederfindungsrate der Konzentration unter dem Acetatpeak der in reinem Wasser gelagerten Probe AS 1/8/00.

#### Lagerstabilität der Probe AS 4/8/00

Die in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerte Probe AS 4/8/00 hat eine gewichtsmittlere Ausgangsmolmasse  $M_w$  von 709.000 g/mol und eine Polydispersität  $M_w/M_n$  von 6,3. Die Probe ist über einen Zeitraum von 107 Tagen nicht lagerstabil. Die Molmasse nimmt kontinuierlich ab. Dabei verhalten sich beide Vergleichslösungen gleich. In **Tabelle 5.5-5** sind die aus den SEC/MALLS/RI-Messungen erhaltenen Daten der beiden Vergleichslösungen zu unterschiedlichen Lagerungszeiten aufgeführt. Über einen Zeitraum von 107 Tagen nimmt die gewichtsmittlere Molmasse von 709.000 auf 512.000 g/mol ab, das sind 72 % der Ausgangsmolmasse. Die Polydispersität sinkt von 6,3 auf 4,5, was 71 % des Ausgangswertes entspricht. Anhand der Werte für die zahlenmittlere und z-statistische Molmasse kann man erkennen, daß der Abbau in der hochmolekularen Flanke der Probe stattfindet. Dieses spiegelt sich auch in der kleiner werdenden Polydispersität wieder. In **Abbildung 5.5-12** ist die normierte gewichtsmittlere Molmasse gegen die Lagerungszeit aufgetragen. Die Meßwerte werden sehr gut durch einen exponentiellen Fit erster Ordnung angepaßt.

*Tabelle 5.5-5 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 4/8/00.*

Lagerungsdauer (Tagen)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)	WR <sub>Ac</sub> (%)
2	113.000	709.000	2.136.000	6,3	87,6	1,80
9	100.000	699.000	2.171.000	7,0	89,9	1,74
16	100.000	678.000	2.049.000	6,8	89,0	1,75
23	115.000	668.000	1.967.000	5,8	87,6	1,71
31	111.000	642.000	1.842.000	5,8	87,9	1,74
37	98.000	622.000	1.832.000	6,4	89,3	1,71
44	100.000	604.000	1.719.000	6,0	88,8	1,73
51	105.000	587.000	1.668.000	5,6	88,6	1,75
58	104.000	571.000	1.600.000	5,5	88,6	1,75
65	98.000	560.000	1.549.000	5,7	89,6	1,76
72	103.000	548.000	1.487.000	5,3	89,4	1,81
79	106.000	547.000	1.479.000	5,2	88,4	1,72
86	106.000	529.000	1.394.000	5,0	88,4	1,75
93	111.000	523.000	1.344.000	4,7	88,3	1,73
100	117.000	519.000	1.338.000	4,5	87,2	1,74
107	114.000	512.000	1.292.000	4,5	93,4	1,84

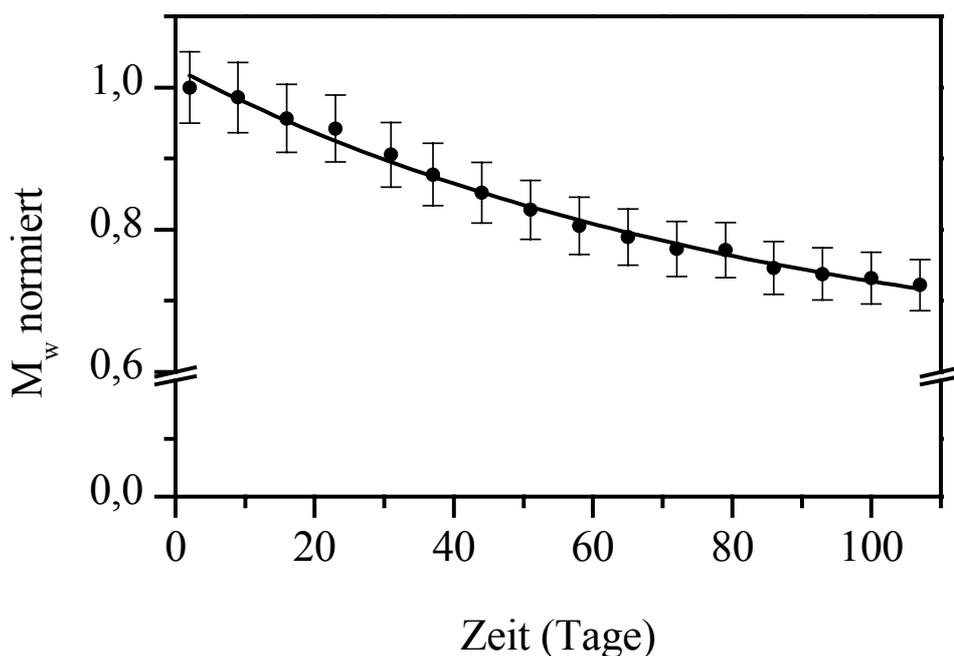


Abbildung 5.5-12 Auftragung der normierten gewichtsmittleren Molmasse gegen die Lagerungsdauer der in 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 4/8/00. Angepaßt wurden die Werte mit einem exponentiellen Fit erster Ordnung.

Der Verlauf des Konzentrationssignals weist eine Bimodalität auf. Zwei nahezu gleich große Peakbereiche sind bei einem Elutionsvolumen von rund 31 ml kaum voneinander getrennt. Die Molmassen nach unterschiedlich langen Lagerungszeiten liegen nahezu auf einer Geraden und entsprechen damit den Kriterien für eine gute Trennung durch die SEC-Säulen. In **Abbildung 5.5-13** ist der Verlauf der Molmasse sowie des Konzentrationssignals nach unterschiedlich langen Lagerungszeiten dargestellt. Das Streulichtsignal weist einen monomodalen Verlauf auf und das Peakmaximum verschiebt sich mit längerer Lagerungszeit zu höheren Elutionsvolumina. Ansonsten entspricht sein Verlauf dem der Probe AS 1/8/00, daher wird auf eine Abbildung verzichtet.

Die Darstellung des kumulativen Molmassenverlaufs (**Abbildung 5.5-14**) zeigt, daß die Abnahme der Molmasse im hochmolekularen Bereich stattfindet. Man sieht weiterhin, daß zu Beginn die Abnahme der Molmasse stärker ist als mit längerer Lagerungszeit, was schon durch den exponentiellen Fit bei den normierten Molmassen gegen die Lagerungsdauer deutlich wurde.

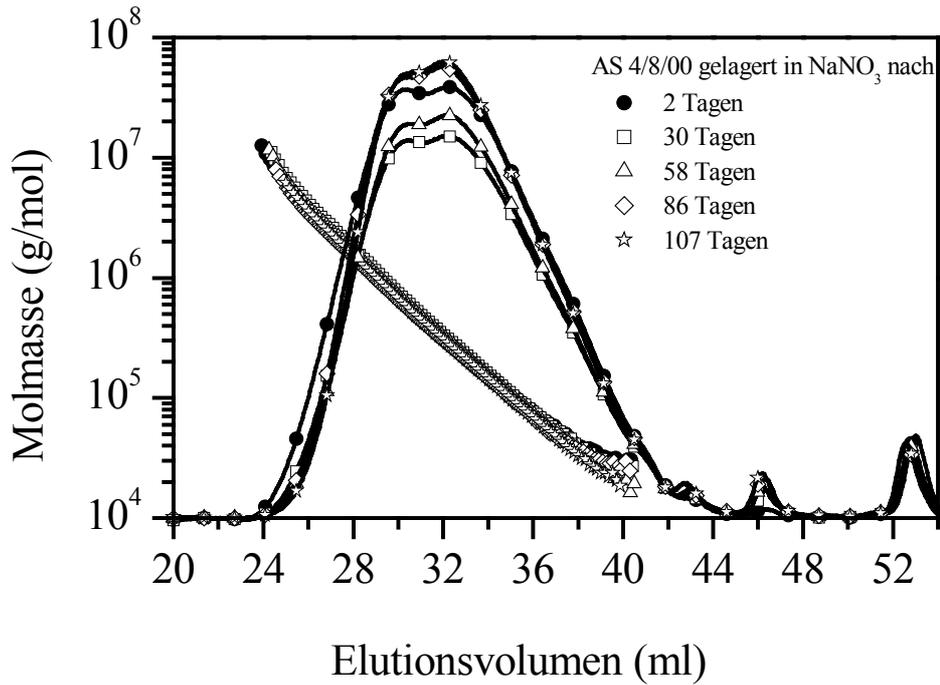


Abbildung 5.5-13 Verlauf von Molmasse und Konzentrationssignal gegen das Elutionsvolumen der in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 4/8/00 nach unterschiedlich langer Lagerungsdauer.

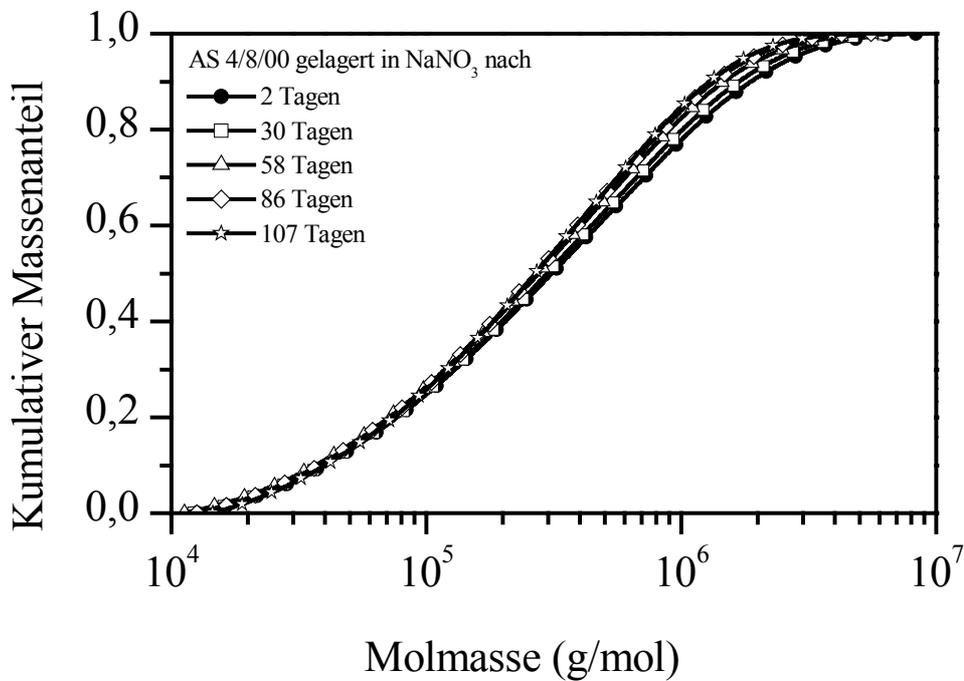


Abbildung 5.5-14 Kumulative Molmassenverteilung der in wässriger 0,1 m Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 4/8/00 nach unterschiedlich langer Lagerungsdauer.

Die Wiederfindungsrate unter dem Acetatpeak ist als konstant anzusehen. Da dies in Übereinstimmung mit der Probe AS 1/8/00 ist, wird auch hier auf eine Abbildung verzichtet.

Die in reinem Wasser gelagerte Probe AS 4/8/00 zeigt für die beiden Vergleichslösungen ein unterschiedliches Verhalten. Bei beiden Proben erfolgt eine Verringerung der Molmassen. Die Molmassen der ersten Vergleichslösung streben jedoch schneller einem kleineren Wert zu. Schon nach 23 Tagen Lagerung sind die Differenzen der ermittelten Molmassen nicht mehr durch methodische Meßfehler zu erklären. Beide Vergleichslösungen zeigen zu Beginn der Lagerung einen gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  von 713.000 g/mol mit einer Polydispersität von 6,3. Die erste Vergleichslösung erreicht nach 107 Tagen Lagerung eine gewichtsmittlere Molmasse von 472.000 g/mol, also 66 % des Ausgangswertes. Die Polydispersität dieser Lösung ist auf einen Wert von 5,0 gesunken. Die zweite Vergleichslösung erreicht nach der gleichen Lagerungsdauer eine gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  von 574.000 g/mol, 81 % des Ausgangswertes mit einer Polydispersität von 5,6. Damit ist der Abbau in diesem Fall nicht einmal so groß wie es bei der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe der Fall war. Aufgrund der Uneinheitlichkeit im Verhalten der Lagerstabilität der Proben werden die Werte für die beiden Vergleichslösungen separat in **Tabelle 5.5-6** aufgeführt.

Wie die Tabelle zeigt, sinken die Werte der gewichtsmittleren- und z-statistischen Molmasse kontinuierlich, wohingegen die Werte der zahlenmittleren Molmasse nahezu konstant bleiben. Somit kann man auch hier davon ausgehen, daß der Abbau auch hier in der hochmolekularen Flanke abläuft. In **Abbildung 5.5-15** ist die normierte gewichtsmittlere Molmasse gegen die Lagerungsdauer aufgetragen. Für beide Lösungen ergeben die Daten Werte, die sich mittels eines exponentiellen Fits erster Ordnung anpassen lassen.

*Tabelle 5.5-6 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der in reinem Wasser gelagerten Probe AS 4/8/00. Die Werte der ersten Vergleichslösung sind grau hinterlegt.*

Lagerungsdauer (Tage)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)	WR <sub>Ac</sub> (%)
1	111.000	713.000	2.153.000	6,3	88,1	1,68
	115.000	713.000	2.102.000	6,2	87,4	1,65
9	106.000	680.000	2.048.000	6,4	88,5	1,66
	111.000	675.000	1.991.000	6,1	88,3	1,63
17	106.000	641.000	1.862.000	6,1	88,3	1,64
	108.000	644.000	1.871.000	6,0	88,4	1,65
23	97.000	609.000	1.767.000	6,3	89,0	1,60
	93.000	625.000	1.868.000	6,7	89,0	1,63
31	106.000	596.000	1.680.000	5,6	88,5	1,63
	107.000	625.000	1.783.000	5,8	88,3	1,63
38	101.000	578.000	1.636.000	5,7	88,9	1,63
	99.000	622.000	1.834.000	6,0	88,9	1,65
45	103.000	560.000	1.554.000	5,5	88,9	1,66
	105.000	617.000	1.771.000	5,9	88,5	1,64
51	115.000	543.000	1.438.000	4,7	87,1	1,63
	116.000	611.000	1.705.000	5,3	86,6	1,64
59	99.000	522.000	1.413.000	5,3	88,7	1,60
	101.000	599.000	1.722.000	6,0	88,6	1,61
65	97.000	513.000	1.349.000	5,3	89,4	1,59
	101.000	596.000	1.656.000	5,9	88,8	1,60
72	106.000	507.000	1.313.000	4,8	88,9	1,71
	108.000	600.000	1.690.000	5,6	88,2	1,71
80	114.000	502.000	1.284.000	4,4	87,8	1,71
	107.000	597.000	1.653.000	5,6	87,5	1,70
86	101.000	483.000	1.237.000	4,8	88,6	1,67
	110.000	580.000	1.557.000	5,3	87,6	1,66
94	95.000	478.000	1.237.000	5,1	91,2	1,72
	94.000	576.000	1.611.000	6,2	89,1	1,63
100	110.000	479.000	1.207.000	4,3	87,5	1,66
	124.000	593.000	1.597.000	4,8	85,7	1,71
107	107.000	472.000	1.173.000	4,4	89,4	1,60
	103.000	574.000	1.599.000	5,6	88,1	1,74

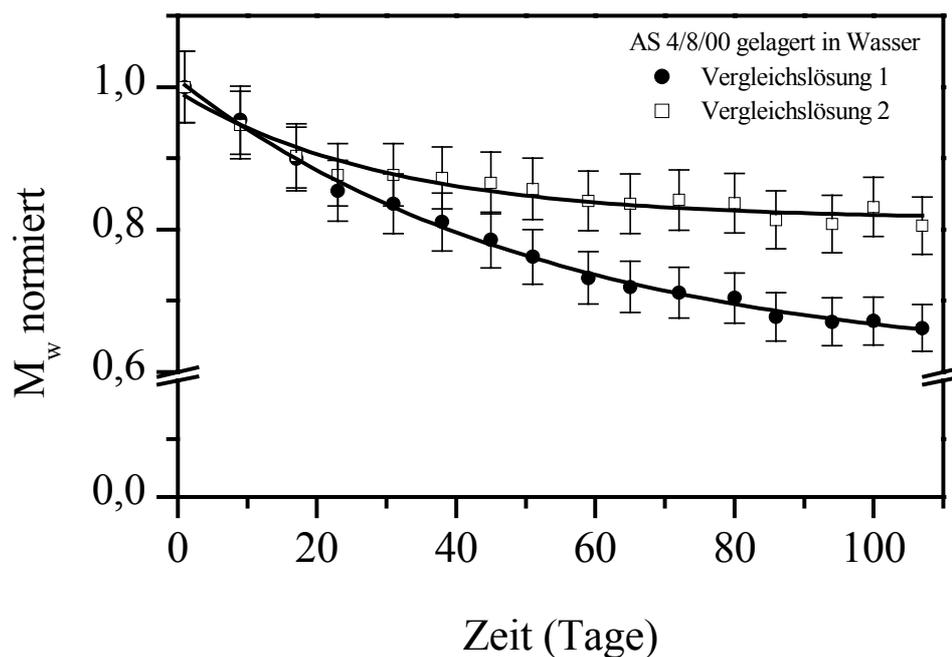


Abbildung 5.5-15 Auftragung der normierten gewichtsmittleren Molmasse gegen die Lagerungsdauer der beiden Vergleichslösungen der in reinem Wasser gelagerten Probe AS 4/8/00.

Die Verläufe von Konzentrations- und Streulichtsignal sehen in ihrem Verhalten ebenso wie die der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe aus. Das Konzentrationssignal weist eine Bimodalität auf, das Streulichtsignal ist monomodal. In der Darstellung der kumulativen Molmasse – **Abbildung 5.5-16** - ist wiederum deutlich zu erkennen, daß der Abbau im hochmolekularen Bereich der Probe stattfindet.

Die Wiederfindungsraten unter dem Acetatpeak verhalten sich auch in diesem Fall im Rahmen der Fehlertoleranzen konstant. Daher wird auch hier auf eine Abbildung verzichtet.

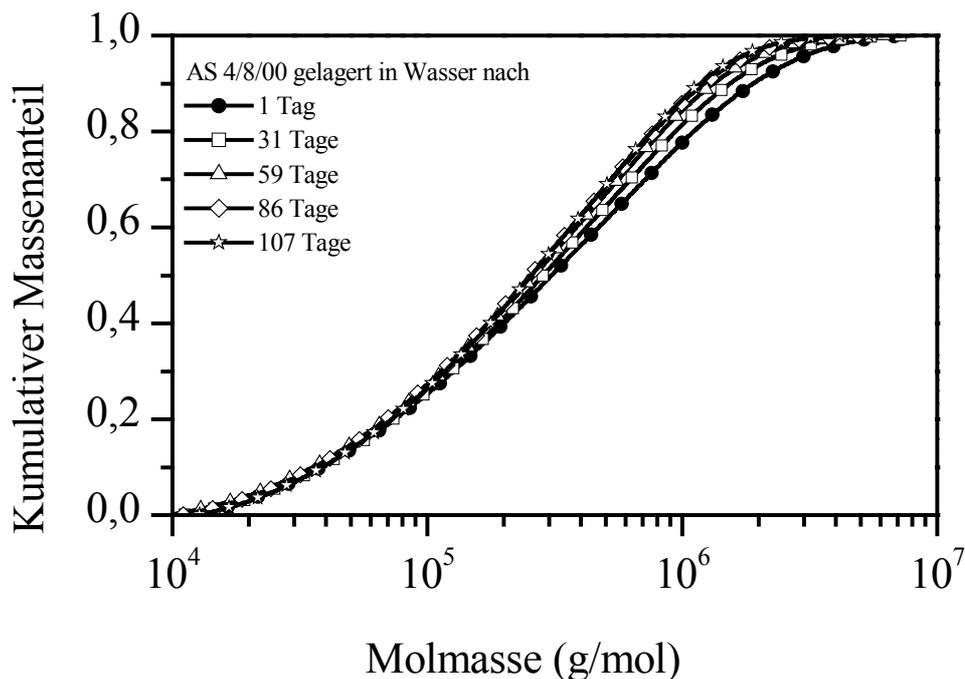


Abbildung 5.5-16 Kumulative Molmassenverteilung der in reinem Wasser gelagerten Probe AS 4/8/00. Für die Graphik sind die Messungen der ersten Vergleichslösung herangezogen worden.

#### Lagerstabilität Probe AS 16/8/00

Die Probe AS 16/8/00 in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid erweist sich, wie anhand der normierten gewichtsmittleren Molmasse gegen die Lagerungsdauer in **Abbildung 5.5-17** zu sehen ist, über einen Zeitraum von 107 Tagen gelagert als stabil hinsichtlich der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$ . Beide Vergleichslösungen verhalten sich identisch. In **Tabelle 5.5-7** sind die Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen nach den verschiedenen Tagen angegeben.

Der Verlauf des Konzentrationssignals ist monomodal, ebenso der des Streulichtsignals. Die Molmasse gegen das Elutionsvolumen ergibt eine Gerade. In **Abbildung 5.5-18** ist der Verlauf der Molmasse und des Konzentrationssignals der ersten und letzten Messung der Lagerstabilitätsuntersuchungen dargestellt. Die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  der Probe beträgt 260.000 g/mol. Die Standardabweichung über alle Messungen beträgt hierbei 1,0 %, so daß davon auszugehen ist, daß diese Probe stabil ist.

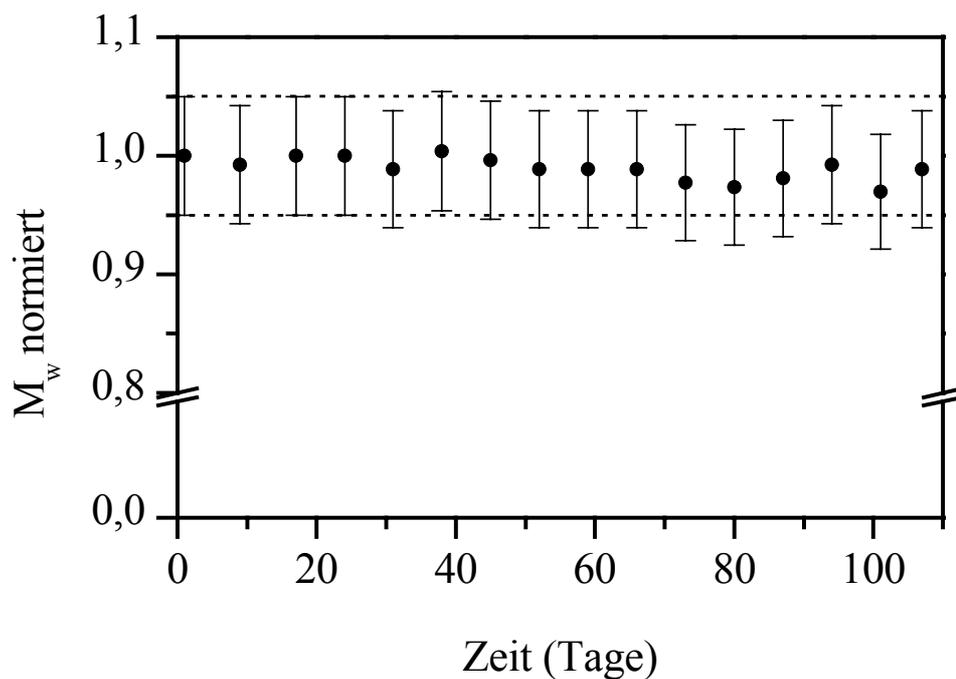


Abbildung 5.5-17 Normierte gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  der in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 16/8/00 über die gesamte Lagerungsdauer.

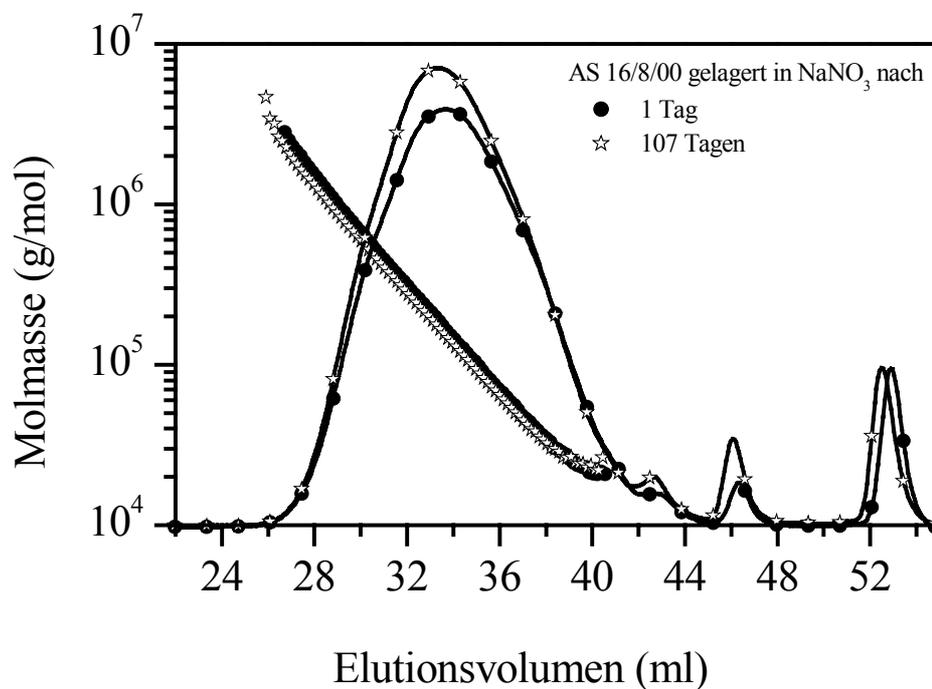


Abbildung 5.5-18 Verlauf der Molmasse sowie des Konzentrationssignals (durchgezogene Linie) gegen das Elutionsvolumen der in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 416/8/00 zu Beginn und am Ende der Lagerstabilitätsuntersuchungen.

*Tabelle 5.5-7 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 16/8/00.*

Lagerungsdauer (Tagen)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)	WR <sub>Ac</sub> (%)
1	79.000	263.000	624.000	3,3	81,7	4,23
9	78.000	261.000	616.000	3,3	84,8	4,17
17	76.000	263.000	637.000	3,5	86,5	4,17
24	80.000	263.000	631.000	3,3	85,6	4,21
31	74.000	260.000	641.000	3,5	87,6	4,23
38	76.000	264.000	650.000	3,3	86,3	4,19
45	80.000	262.000	633.000	3,3	86,4	4,19
52	83.000	260.000	616.000	3,1	85,3	4,17
59	88.000	260.000	610.000	3,0	84,3	4,19
66	86.000	260.000	609.000	3,0	85,1	4,23
73	84.000	257.000	603.000	3,0	85,5	4,23
80	84.000	256.000	604.000	3,0	85,0	4,22
87	91.000	258.000	592.000	2,9	83,4	4,18
94	95.000	261.000	591.000	2,8	83,8	4,22
101	88.000	255.000	588.000	2,9	84,9	4,20
107	97.000	260.000	580.000	2,7	83,0	4,18

Bezüglich der z-statistischen Molmasse scheint es zu einem leichten Abbau der Molmasse zu kommen. Der Wert der z-statistischen Molmasse  $M_z$  sinkt von über 600.000 g/mol auf ca. 580.000 g/mol ab. Als Mittelwert über alle Messungen ergibt sich hierbei ein Wert von 605.000 g/mol mit einer Standardabweichung von 61.000 g/mol, was einer Abweichung von 10,1 % entspricht. Diese Abweichung ist relativ hoch. Man muß jedoch beachten, daß hochmolekulare Teilchen, bei denen die Konzentration relativ gering ist, maßgeblich die z-statistische Molmasse beeinflussen. Dies führt zu einem erhöhten Fehler in der Bestimmung dieser Molmasse. Es ist also zu prüfen, ob es bezüglich dieser hochmolekularen Flanke zu einem leichten Abbau der Molmasse kommt oder ob es sich um einen Fehler bei der Messung handelt. Der Unterschied in der Molmasse ist weder in der differentiellen Molmassenverteilung noch in der kumulativen - wie in **Abbildung 5.5-19** dargestellt - signifikant zu erkennen.

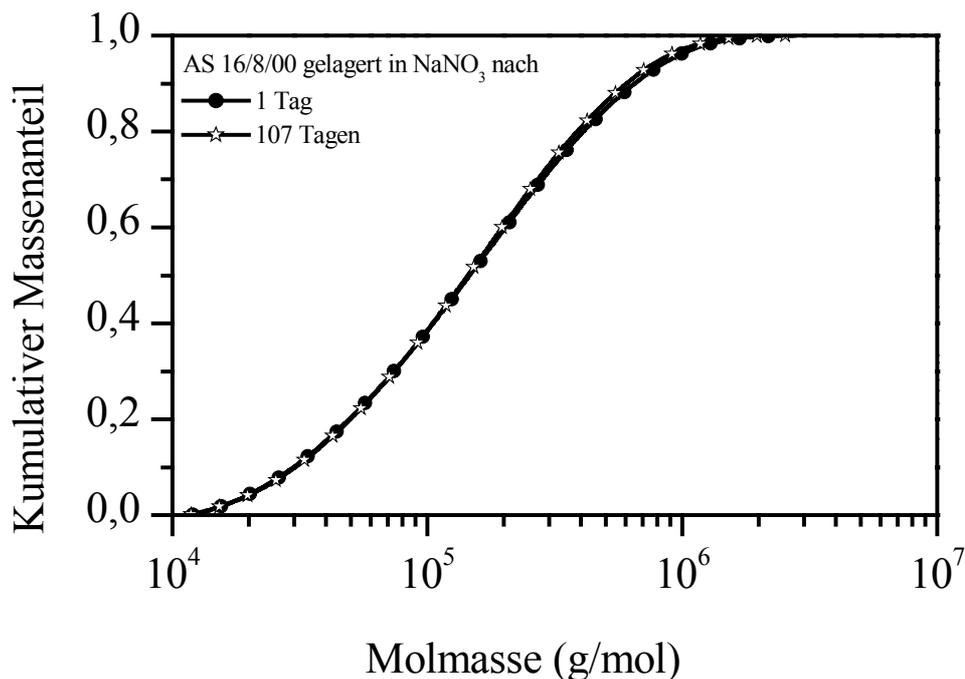


Abbildung 5.5-19 Kumulative Molmassenverteilungen der in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 16/8/00 zu Beginn und am Ende der Lagerstabilitätsuntersuchungen.

Die Wiederfindungsrate unter dem Acetatpeak ist auch in diesem Fall als konstant anzusehen, so daß man nicht davon ausgehen kann, daß sich während der Lagerung vermehrt Acetat von dem Molekül abspaltet.

Auch die in reinem Wasser gelagerte Proben AS 16/8/00 zeigt sich über den Zeitraum von 108 Tagen in Wasser hinsichtlich der Molmassen als stabil. Insgesamt ergibt sich für die Probe gemittelt über alle Messungen während der Lagerungsuntersuchungen eine zahlenmittlere Molmasse  $M_n$  von  $(80.000 \pm 4.300)$  g/mol, was einer Abweichung von 5,3 % entspricht, eine gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  von  $(262.000 \pm 1.500)$  g/mol, das einer Abweichung von nur 0,6 % entspricht und einer z-statistischen Molmasse  $M_z$  von  $(631.000 \pm 11.000)$  g/mol, also einer Abweichung von 1,8 %. In **Tabelle 5.5-8** sind die Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der in Wasser gelagerten Proben über die einzelnen Zeiträume aufgeführt. Mit der geringen Standardabweichung gerade hinsichtlich der z-statistischen Molmasse  $M_z$  scheint die in Wasser gelagerte Probe sogar noch „stabiler“ zu sein als die im Lichtstreuungsmedium.

*Tabelle 5.5-8 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der in reinem Wasser gelagerten Probe AS 16/8/00.*

Lagerungsdauer (Tagen)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)	WR <sub>Ac</sub> (%)
1	77.000	262.000	637.000	3,4	85,9	4,18
9	76.000	263.000	648.000	3,5	86,4	4,17
17	72.000	264.000	649.000	3,7	83,1	3,93
24	75.000	262.000	643.000	3,5	86,5	4,12
31	81.000	263.000	634.000	3,3	86,9	4,10
38	80.000	262.000	631.000	3,3	85,8	4,08
45	76.000	262.000	633.000	3,4	86,6	4,16
52	79.000	262.000	634.000	3,3	86,7	4,07
59	81.000	261.000	633.000	3,2	85,5	4,14
66	80.000	262.000	626.000	3,3	86,1	4,13
73	83.000	264.000	630.000	3,2	85,8	4,14
80	82.000	261.000	633.000	3,2	85,6	4,15
87	83.000	260.000	619.000	3,1	85,3	4,01
94	87.000	262.000	620.000	3,0	83,8	4,22
101	85.000	260.000	618.000	3,1	85,5	4,10
108	88.000	261.000	615.000	3,0	84,9	3,97

Der Verlauf von sowohl Streulicht- als auch Konzentrationssignal erweist sich als monomodal. Es sind keine Unterschiede im Laufe der Lagerung zu erkennen. In **Abbildung 5.5-20** ist der Verlauf der Molmasse und des Konzentrationssignals der in Wasser gelagerten Proben AS 16/8/00 zu Beginn und am Ende der Lagerstabilitätsuntersuchungen dargestellt. Da sich die Probe stabil verhält und auch ansonsten das gleiche Verhalten wie die in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerte Probe aufzeigt, wird hier auf weitere Abbildungen verzichtet. Die Wiederfindungsrate unter dem Acetatpeak zeigt sich auch bei dieser Probe als stabil.

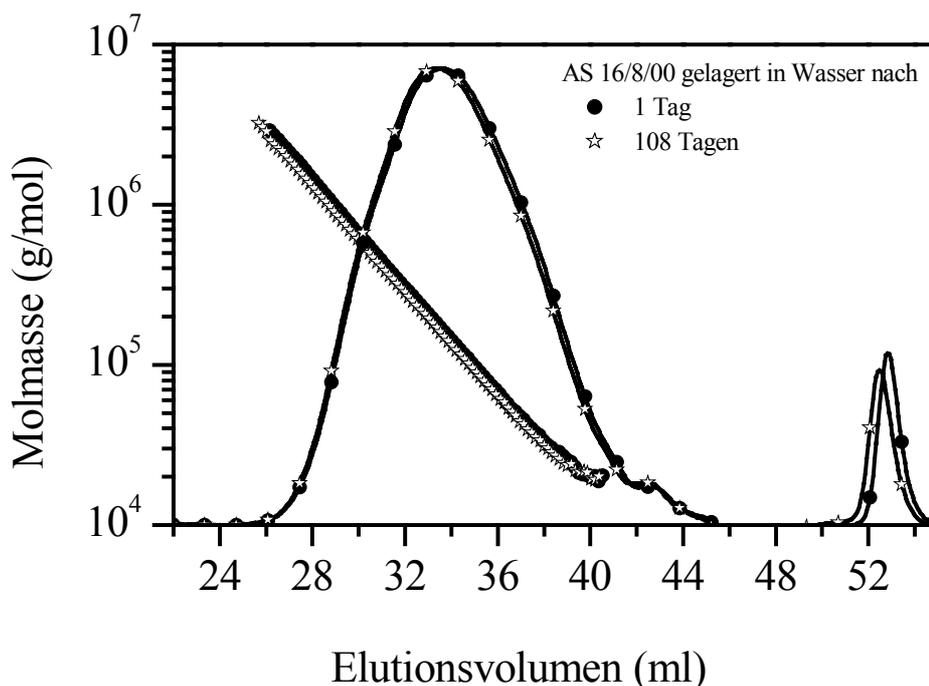


Abbildung 5.5-20 Verlauf der Molmasse sowie des Konzentrationssignals (durchgezogene Linien) der in reinem Wasser gelagerten Probe AS 16/8/00 zu Beginn und am Ende der Lagerstabilitätsuntersuchungen.

#### Lagerstabilität der Probe AS 18/8/00

Die in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerte Probe AS 18/8/00 mit einer kleineren Molmasse und geringere Polydispersität zeigt wie schon die zuvor beschriebene Probe AS 16/8/00 ebenfalls ein konstantes, stabiles Verhalten bezüglich der Molmassen. Es ergeben sich über alle Messungen der Lagerstabilität folgende gemittelte Werte: die zahlenmittlere Molmasse  $M_n$  beträgt  $(57.000 \pm 2.800)$  g/mol, die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$   $(151.000 \pm 1.000)$  g/mol und die z-statistische Molmasse  $M_z$   $(329.000 \pm 5.500)$  g/mol, was Abweichungen von 5 %, 0,7 respektive 1,7 % entspricht. Der Verlauf von Streulicht- und Konzentrationssignal ist jeweils monomodal. In **Abbildung 5.5-21** ist der Verlauf der Molmasse und des Konzentrationssignals für die in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerte Probe AS 18/8/00 zu Beginn und am Ende der Lagerstabilitätsuntersuchungen dargestellt. **Tabelle 5.5-9** zeigt die Werte der SEC/MALLS/RI-Messungen nach der jeweiligen Lagerungszeit. Sowohl die jeweiligen Molmassenmittelwerte als auch die Wiederfindungsrate des Acetatpeaks zeigt sich über den untersuchten Zeitraum als stabil.

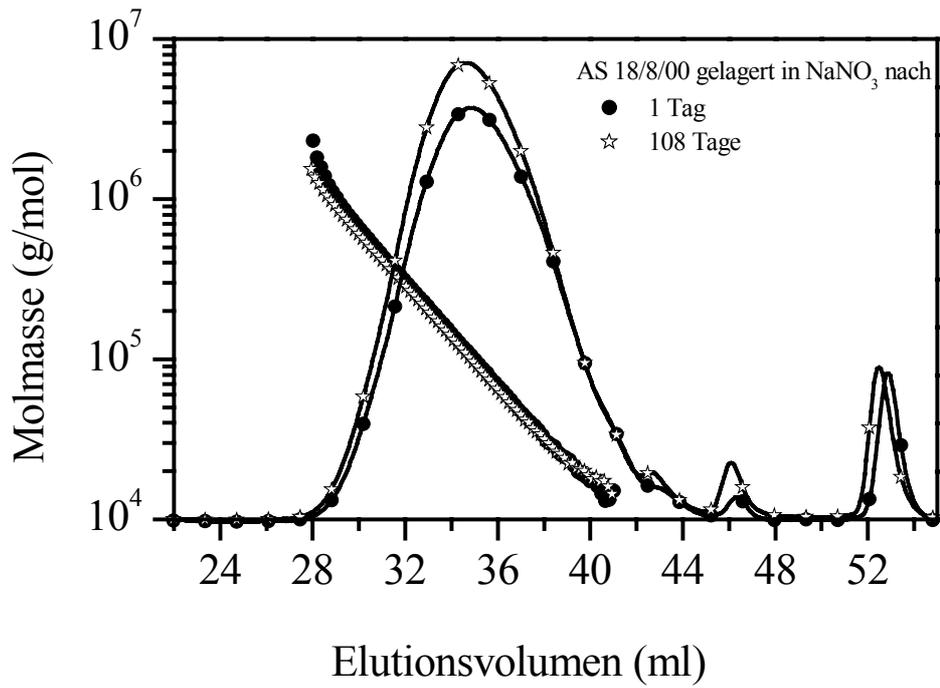


Abbildung 5.5-21 Verlauf der Molmasse sowie des Konzentrationssignals (durchgezogene Linie) der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 18/8/00 zu Beginn und am Ende der Lagerstabilitätsuntersuchungen.

*Tabelle 5.5-9 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 18/8/00.*

Lagerungsdauer (Tage)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)	WR <sub>Ac</sub> (%)
2	60.000	152.000	327.000	2,6	84,6	4,37
9	56.000	151.000	332.000	2,7	86,7	4,38
17	51.000	151.000	341.000	2,9	88,4	4,36
24	52.000	150.000	333.000	2,9	87,8	4,34
31	57.000	151.000	332.000	2,7	86,8	4,36
38	58.000	152.000	332.000	2,6	92,6	4,36
45	54.000	152.000	335.000	2,8	88,2	4,42
52	55.000	151.000	329.000	2,7	87,5	4,35
59	58.000	151.000	327.000	2,6	86,3	4,40
66	58.000	153.000	329.000	2,6	86,5	4,40
73	55.000	151.000	326.000	2,8	89,7	4,41
80	58.000	151.000	329.000	2,6	86,7	4,39
87	55.000	150.000	328.000	2,7	87,4	4,36
94	58.000	151.000	320.000	2,6	85,5	4,37
101	57.000	151.000	322.000	2,6	87,6	4,39
107	58.000	151.000	323.000	2,6	87,4	4,40

Auch die in reinem Wasser gelagerte Probe AS 18/8/00 verhält sich ebenso wie die Probe AS 16/8/00, die höhere Molmassen aufweist, über den untersuchten Zeitraum als stabil hinsichtlich sowohl der Molmasse als auch der Wiederfindungsrate unter dem Acetatpeak. In **Tabelle 5.5-10** sind die Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen aufgeführt. Streulicht- und Konzentrationssignal, sowie die Molmassen verhalten sich wie die der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe. In sehr geringer Abweichung zu der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe ergeben sich hier über alle Messungen gemittelt die folgend aufgeführten Molmassen: zahlenmittlere Molmasse  $M_n$  ( $60.000 \pm 2.100$ ) g/mol, gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  ( $152.000 \pm 900$ ) g/mol und z-statistische Molmasse  $M_z$  ( $325.000 \pm 4.000$ ) g/mol, also Abweichungen von 3,5 %, 0,6 % und 1,2 %.

*Tabelle 5.5-10 Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der in reinem Wasser gelagerten Probe AS 18/8/00.*

Lagerungsdauer (Tage)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$M_z$ (g/mol)	$M_w/M_n$	WR (%)	WR <sub>Ac</sub> (%)
2	60.000	152.000	325.000	2,5	84,3	4,24
10	57.000	151.000	331.000	2,6	85,9	4,23
17	60.000	154.000	331.000	2,5	85,3	4,22
24	57.000	150.000	327.000	2,7	86,2	4,25
31	58.000	150.000	325.000	2,6	86,2	4,27
38	59.000	151.000	326.000	2,6	85,9	4,25
45	57.000	151.000	329.000	2,7	86,4	4,22
52	54.000	153.000	324.000	2,8	84,7	4,23
59	61.000	152.000	324.000	2,5	84,6	4,20
66	61.000	152.000	323.000	2,5	84,8	4,19
73	61.000	152.000	327.000	2,6	85,3	4,20
80	61.000	152.000	327.000	2,5	85,3	4,22
87	63.000	152.000	322.000	2,4	83,9	4,17
94	63.000	151.000	319.000	2,4	84,7	4,20
101	61.000	152.000	321.000	2,5	85,6	4,17
108	60.000	151.000	324.000	2,5	85,8	4,20

### Zusammenfassung

Die Lagerstabilität der Proben erweist sich als abhängig von der Ausgangsmolmasse der Probe. So sind die beiden hochmolekularen Acetylstärken AS 1/8/00 und AS 4/8/00 nicht stabil. Bei den Lösungen, die in Wasser gelagert wurden, fällt darüber hinaus auf, daß die beiden Vergleichslösungen unterschiedlich schnell ihre Molmasse abbauen, wohingegen die beiden Vergleichslösungen in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid sich einheitlich hinsichtlich der Abbaugeschwindigkeit verhalten. Zu Beginn der Lagerungsdauer stimmen die Molmasse und Molmassenverteilungen aller Vergleichslösungen der jeweiligen Probe unabhängig vom Lösungs- und Lagerungsmittel überein. Bei den hochmolekularen Proben kommt es zu einem Abbau, bei den niedermolekularen Proben nicht. In **Abbildung 5.5-22** sind die differentiellen Molmassenverteilungen der

Proben AS 1/8/00 und AS 4/8/00 zu Beginn und am Ende der Lagerungszeit in beiden Lösungsmitteln dargestellt.

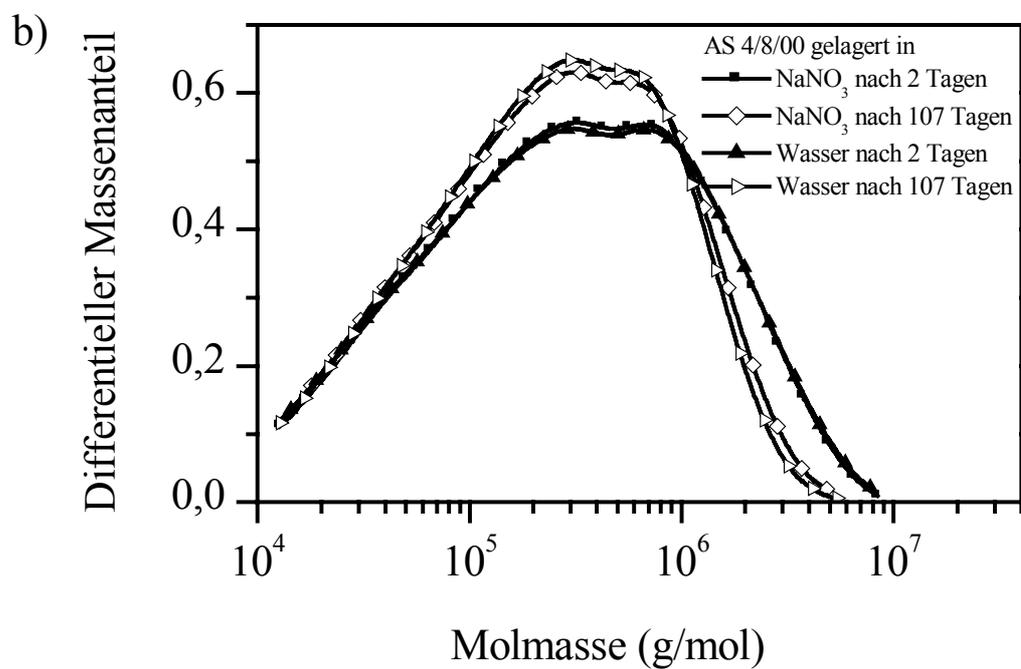
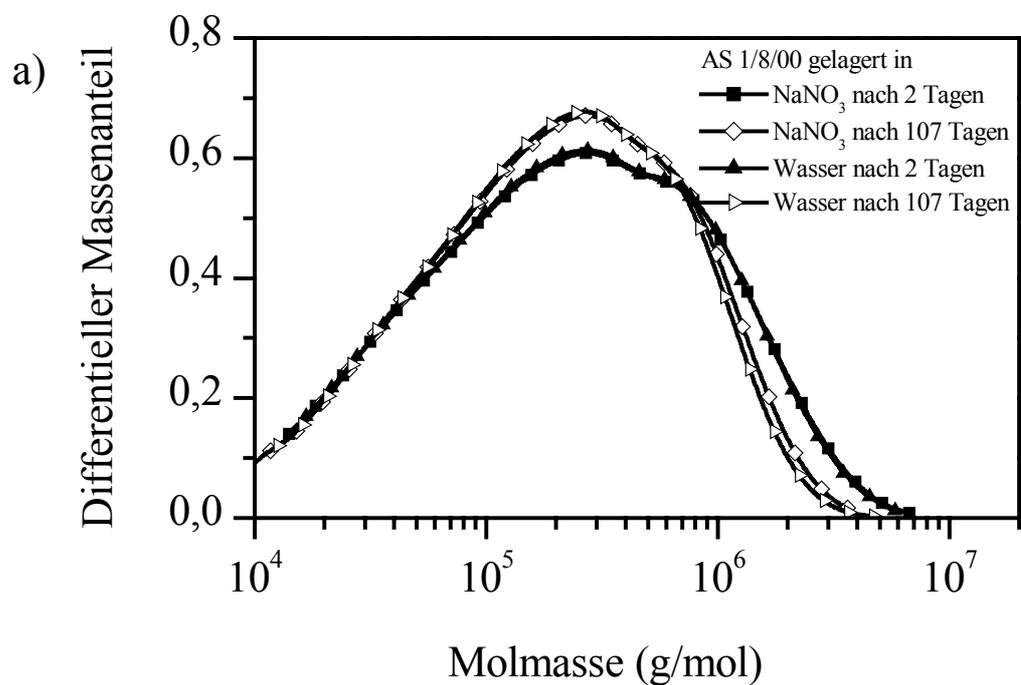
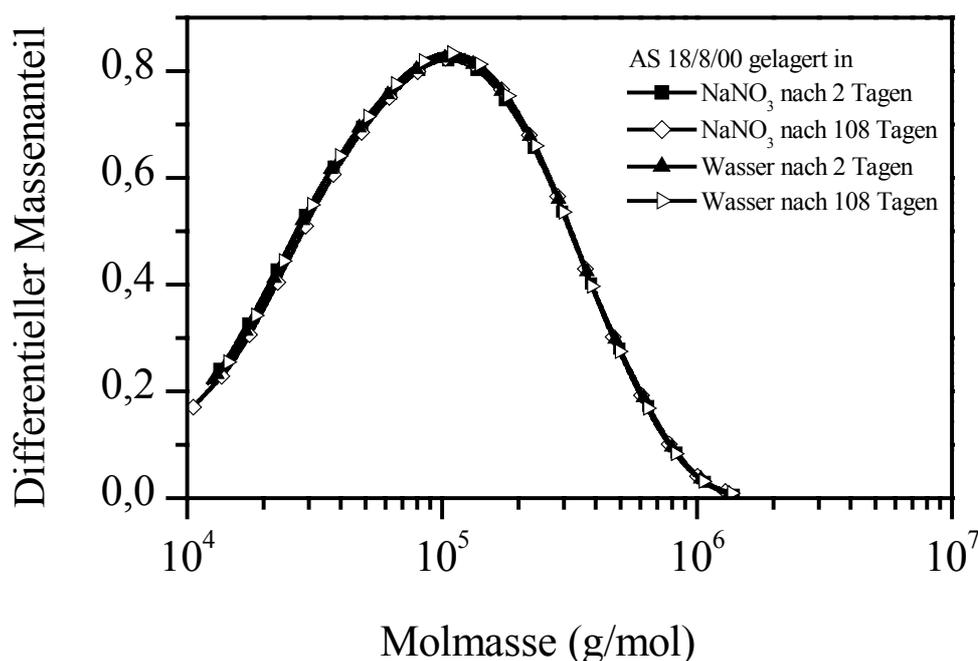


Abbildung 5.5-22 Differentielle Molmassenverteilungen der Proben a) AS 1/8/00 und b) AS 4/8/00 zu Beginn (geschlossene Symbole) und am Ende (offene Symbole) der Lagerungsdauer.

Man sieht bei beiden Proben, daß die Molmassen abnehmen und sich die Polydispersitäten verringern. Die Abnahme erfolgt dabei in der hochmolekularen Flanke der Probe.

Zum Vergleich zu diesen Proben wird in **Abbildung 5.5-23** die differentielle Molmassenverteilung der Probe AS 18/8/00 dargestellt. Hier ist weder im Bezug auf das Lösungsmittel noch auf die Lagerungsdauer ein Unterschied in der Molmassenverteilung und der Polydispersität zu erkennen.



*Abbildung 5.5-23 Differentielle Molmassenverteilungen der Probe AS 18/8/00 zu Beginn (geschlossene Symbole) und am Ende (offene Symbole) der Lagerungsdauer.*

Anhand der Darstellung – **Abbildung 5.5-24** – des Verlaufs der Molmasse zusammen mit dem des Konzentrations- und Streulichtsignals gegen das Elutionsvolumen der hochmolekularen und niedermolekularen Proben sieht man nochmals deutlich die Unterschiede besonders im Verhalten des Streulichtsignals. Während bei der niedermolekularen Probe AS 18/8/00 die Kurven zu Beginn und Ende der Lagerungszeit übereinstimmen, wandern bei der hochmolekularen Probe die Peakmaxima der Streulichtpeaks zu höheren Elutionsvolumina. Auch die Bimodalität der hochmolekularen Probe AS 1/8/00, die mit der Lagerungsdauer leicht in ihrer Intensität abnimmt, ist gut zu erkennen.

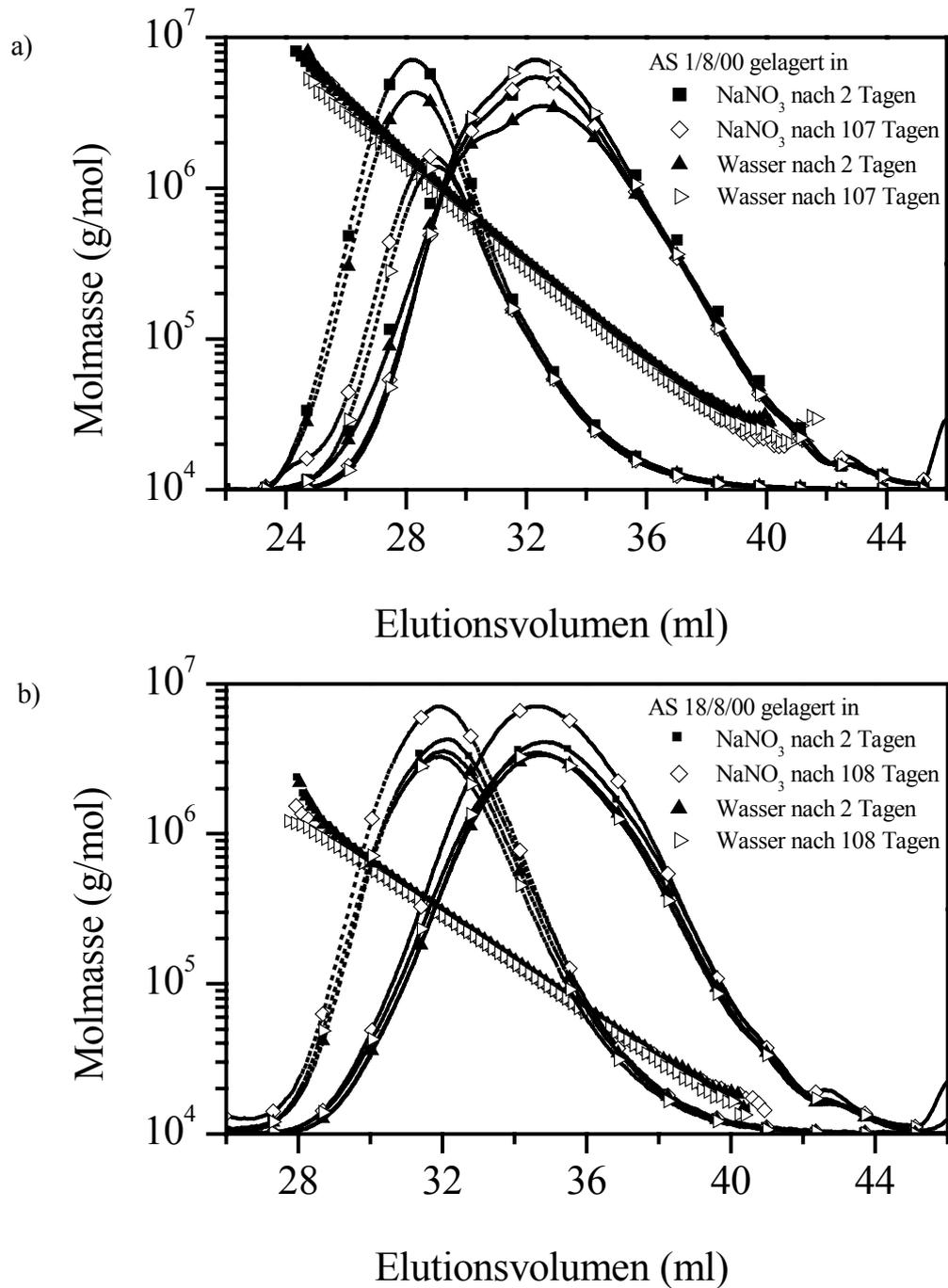
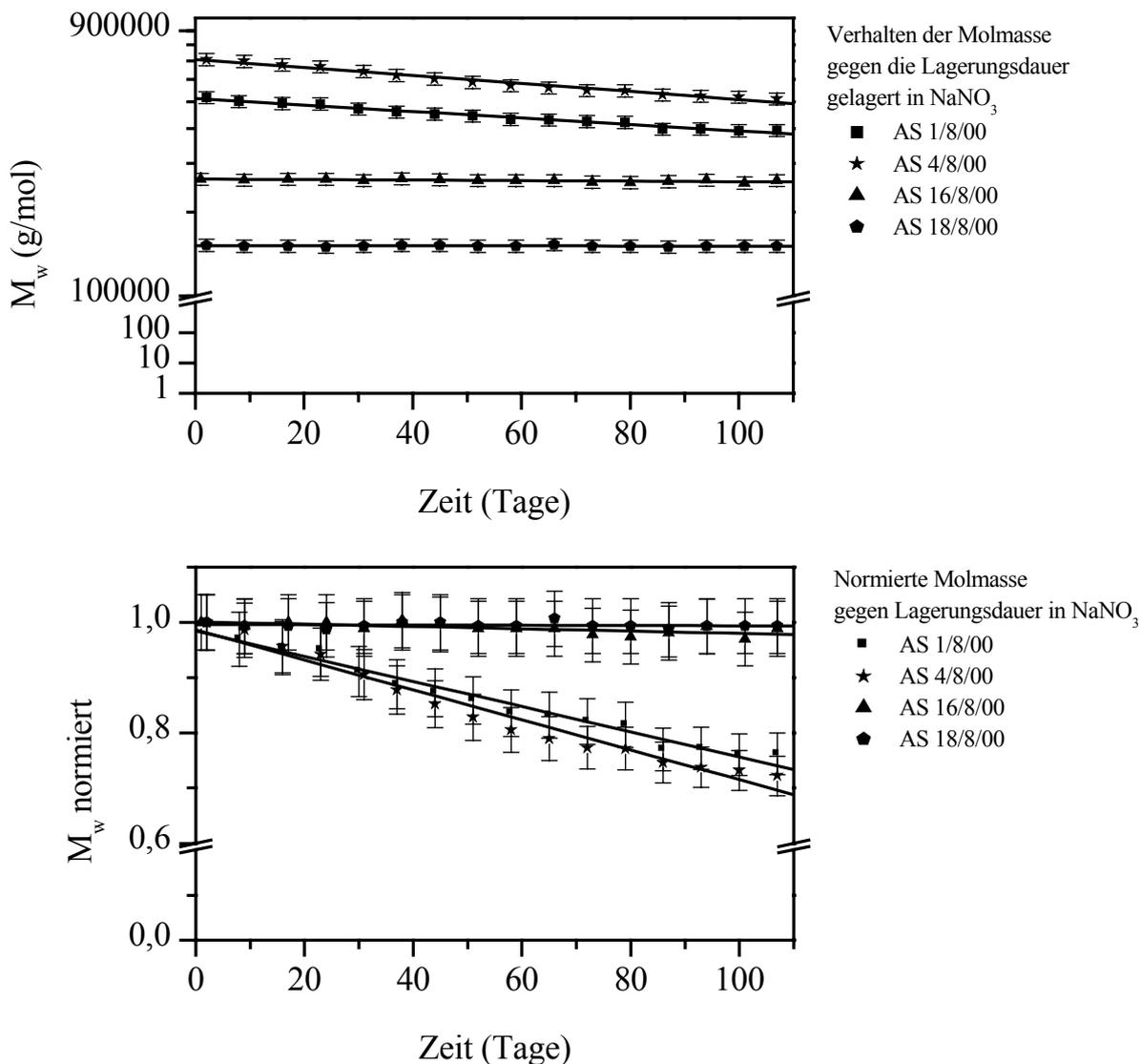


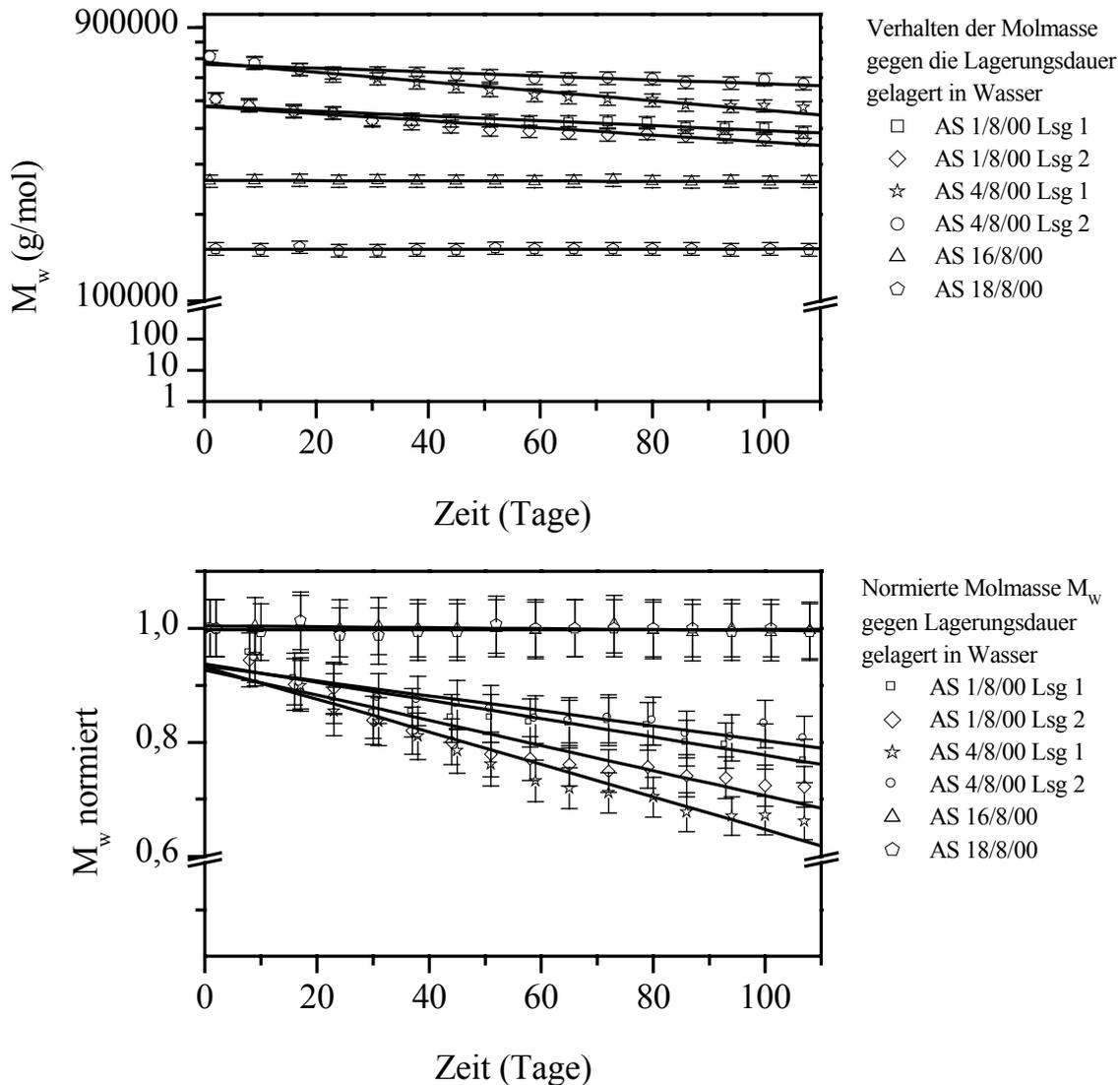
Abbildung 5.5-24 Verlauf der Molmasse (nur Symbole), des Konzentrationssignals (durchgezogene Linie) und des Streulichtsignals (gepunktete Linie) der Proben a) AS 1/8/00 und b) AS 18/8/00 gegen das Elutionsvolumen jeweils zu Beginn (geschlossenen Symbole) und am Ende (offenen Symbole) der Lagerungsdauer.

Zur Veranschaulichung des Verhaltens der Molmassen der einzelnen Proben gelagert in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gegen die Lagerungszeit ist in **Abbildung 5.5-25** die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  und die normierte gewichtsmittlere Molmasse gegen die Lagerungszeit aufgetragen. Die Proben unter 300.000 g/mol zeigen hierbei ein stabiles Verhalten, während die höhermolekularen Proben kontinuierlich im Molmassenwert abfallen.



*Abbildung 5.5-25 Gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  bzw. normierte gewichtsmittlere Molmasse der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten Proben gegen die Lagerungsdauer. Angepaßt sind die Werte mit einem Fit erster Ordnung.*

Analoges gilt für die in Wasser gelagerten Proben, deren Molmasse bzw. normierte Molmasse gegen die Lagerungsdauer in **Abbildung 5.5-26** dargestellt sind. Hierbei ist noch bei den hochmolekularen Proben zwischen den beiden Vergleichslösungen differenziert worden und sie sind separat dargestellt.



*Abbildung 5.5-26 Gewichtsmittlere Molmasse bzw. normierte gewichtsmittlere Molmasse der in Wasser gelagerten Acetylstärke-Proben gegen die Lagerungsdauer. Angepaßt sind die Werte mit einem Fit erster Ordnung.*

Durch die Auftragung der normierten Wiederfindungsraten unter den Acetatpeaks der Proben – **Abbildung 5.5-27** - ist sehr gut zu sehen, daß diese Werte über die gesamte Lagerungsdauer im Rahmen der Meßgenauigkeit stabil sind. Insgesamt belegt die gute

Reproduzierbarkeit der Meßdaten die gute Eignung der Methodenkombination SEC/MALLS/RI für Acetylstarke. Dies wird auch dadurch belegt, daß die Meßdaten sehr gut durch lineare bzw. exponentielle Verläufe erster Ordnung angepaßt werden konnten.

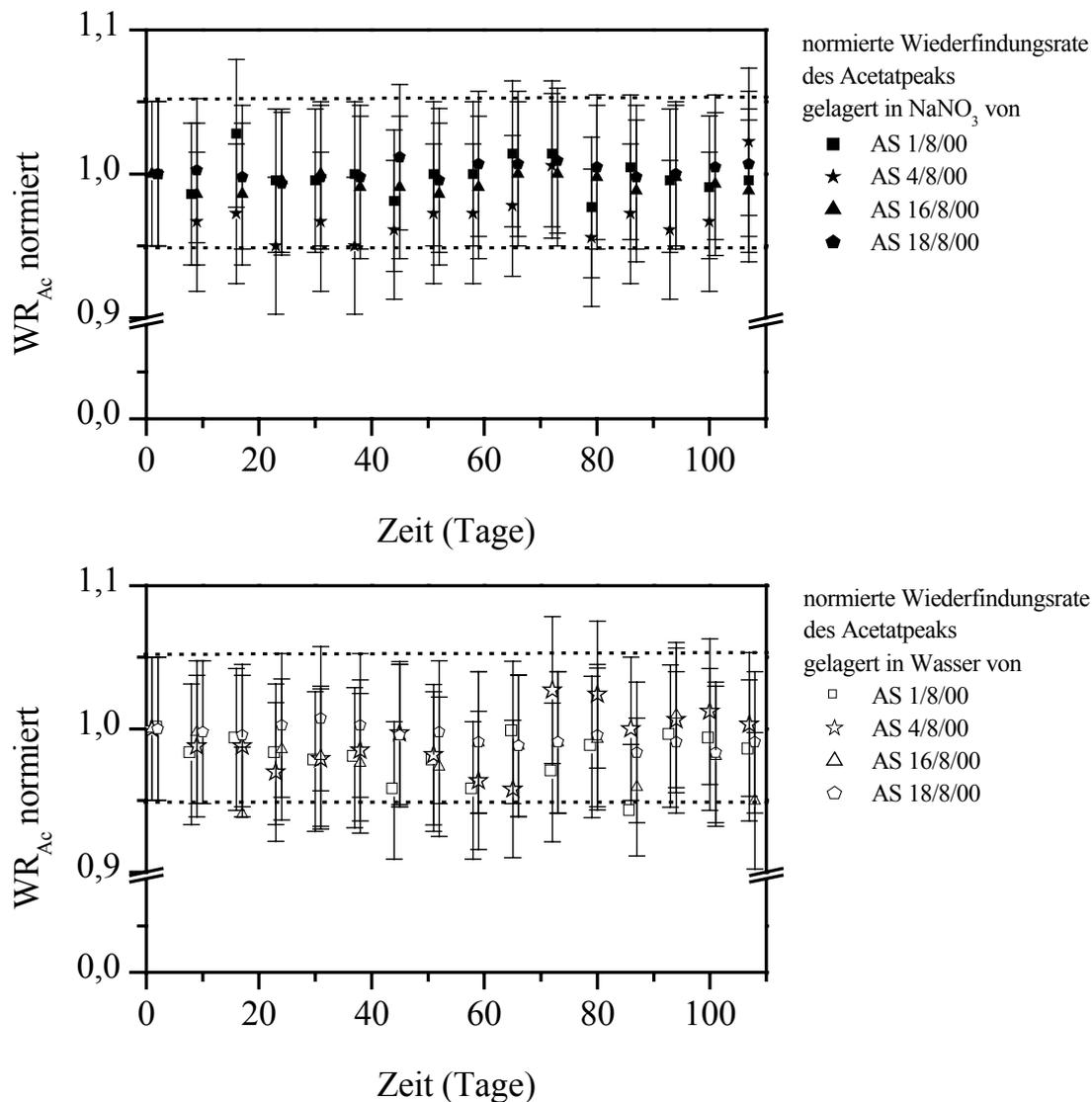


Abbildung 5.5-27 Normierte Wiederfindungsraten des Acetatpeaks gegen die Lagerungsdauer der a) in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid und b) in reinem Wasser gelagerten Acetylstarke.

### Viskosimetrische Messungen

An den in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten Acetylstarke wurden einmal monatlich viskosimetrische Messungen durchgeführt. Als Ergebnis dieser Messungen erhält man den Staudinger-Index  $[\eta]$  und die Konstante  $k_\eta$  der

Mark-Houwink-Beziehung. Von den Messungen wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt. In den folgenden **Tabellen 5.5-11 bis 5.5-14** sind für jede Probe die Ergebnisse der Staudinger-Indizes  $[\eta]$  und der Konstanten  $k_\eta$  mit den Fehlergrenzen nach den einzelnen Zeitabschnitten angegeben.

*Tabelle 5.5-11 Ergebnisse der viskosimetrischen Messungen der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 1/8/00.*

Zeit (Monat)	$[\eta]$ (cm <sup>3</sup> /g)	$k_\eta$
1	15,0 ± 0,3	1,246 ± 0,159
2	14,2 ± 0,6	1,357 ± 0,033
3	13,8 ± 0,4	1,308 ± 0,103
4	13,1 ± 0,5	1,479 ± 0,136

*Tabelle 5.5-12 Ergebnisse der viskosimetrischen Messungen der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 4/8/00.*

Zeit (Monat)	$[\eta]$ (cm <sup>3</sup> /g)	$k_\eta$
1	15,3 ± 0,6	1,476 ± 0,092
2	15,2 ± 0,4	1,541 ± 0,141
3	14,2 ± 0,6	1,511 ± 0,203
4	13,9 ± 0,5	1,585 ± 0,127

*Tabelle 5.5-13 Ergebnisse der viskosimetrischen Messungen der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS 16/8/00.*

Zeit (Monat)	$[\eta]$ (cm <sup>3</sup> /g)	$k_\eta$
1	12,7 ± 0,1	1,136 ± 0,016
2	12,4 ± 0,2	1,283 ± 0,035
3	11,6 ± 0,4	1,471 ± 0,107
4	11,5 ± 0,4	1,559 ± 0,039

*Tabelle 5.5-14 Ergebnisse der viskosimetrischen Messungen der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Probe AS18/8/00.*

Zeit (Monat)	$[\eta]$ (cm <sup>3</sup> /g)	$k_{\eta}$
1	11,0 ± 0,1	1,151 ± 0,133
2	10,8 ± 0,2	1,163 ± 0,095
3	10,0 ± 0,3	1,420 ± 0,121
4	9,8 ± 0,2	1,578 ± 0,099

Die jeweils erhaltenen Staudinger-Indizes  $[\eta]$  sind mit Werten zwischen 10 und 15 cm<sup>3</sup>/g sehr klein. Dies deutet auf sehr stark verzweigte Systeme hin. Dennoch entspricht das Verhalten der einzelnen Proben dem durch SEC/MALLS/RI-Messungen ermittelten. Auch hier weist die Probe AS 4/8/00 den höchsten Staudinger-Index  $[\eta]$  auf gefolgt von den Proben AS 1/8/00, AS 16/8/00 und AS 18/8/00. Im Vergleich zu den Ergebnissen der SEC/MALLS/RI-Messungen nehmen die Staudinger-Indizes  $[\eta]$  der Proben AS 16/8/00 und AS 18/8/00 mit der Lagerungsdauer leicht ab, was durch die SEC-Messungen nicht bestätigt wurde. Allerdings ist der Fehler dieser Messungen recht hoch und mit den erhaltenen kleinen Werten kann man keine zuverlässigen Aussagen treffen.

### NMR-Messungen

Die niedermolekularen Proben AS 16/8/00 und AS 18/8/00 wurden gelöst in D<sub>2</sub>O einmal monatlich mittels <sup>13</sup>C-NMR vermessen. In **Abbildung 5.5-28** sind die vier Spektren der Probe AS 16/8/00 und in **Abbildung 5.5-29** die der Probe AS 18/8/00 dargestellt. Es sind keine Unterschiede zu erkennen.

In den **Tabellen 5.5-15** und **5.5-16** sind die chemischen Verschiebungen der Proben nochmals zusammengefaßt. Sowohl die Messungen nach den einzelnen Lagerungszeiten als auch die Messungen der unterschiedlichen Proben stimmen sehr gut überein. Daher kann davon ausgegangen werden, daß keine Veränderung der Proben während der Lagerung stattgefunden hat. Die Peaks in den Spektren bei 23,74/23,75 ppm und 64,27/64,28 ppm lassen sich auf Isopropanol und der Peak bei 38,75 ppm auf DMSO zurückführen, die noch von der Synthese im System verblieben sind.

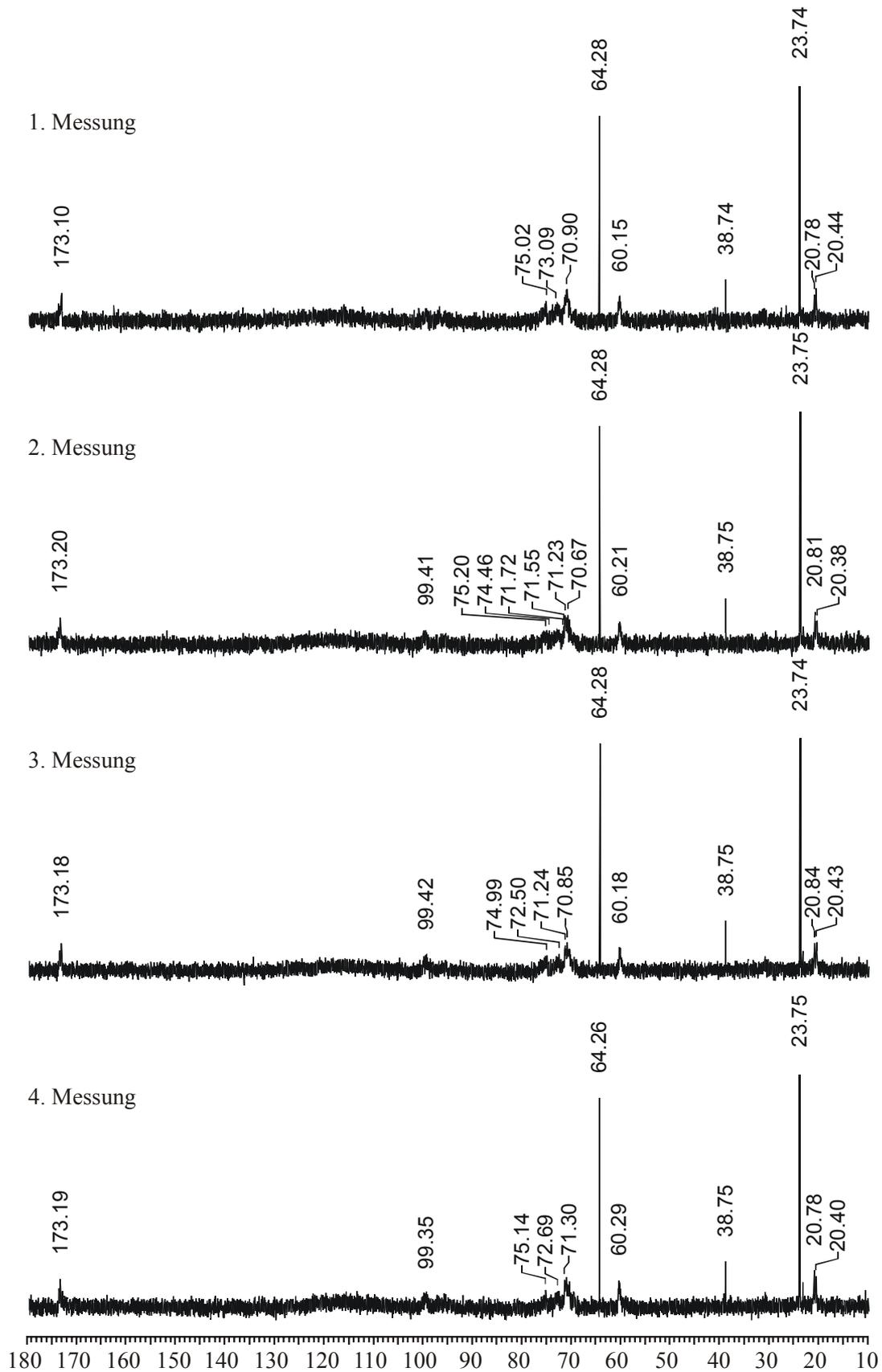


Abbildung 5.5-28  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren der in  $\text{D}_2\text{O}$  gelagerten Probe AS 16/8/00.

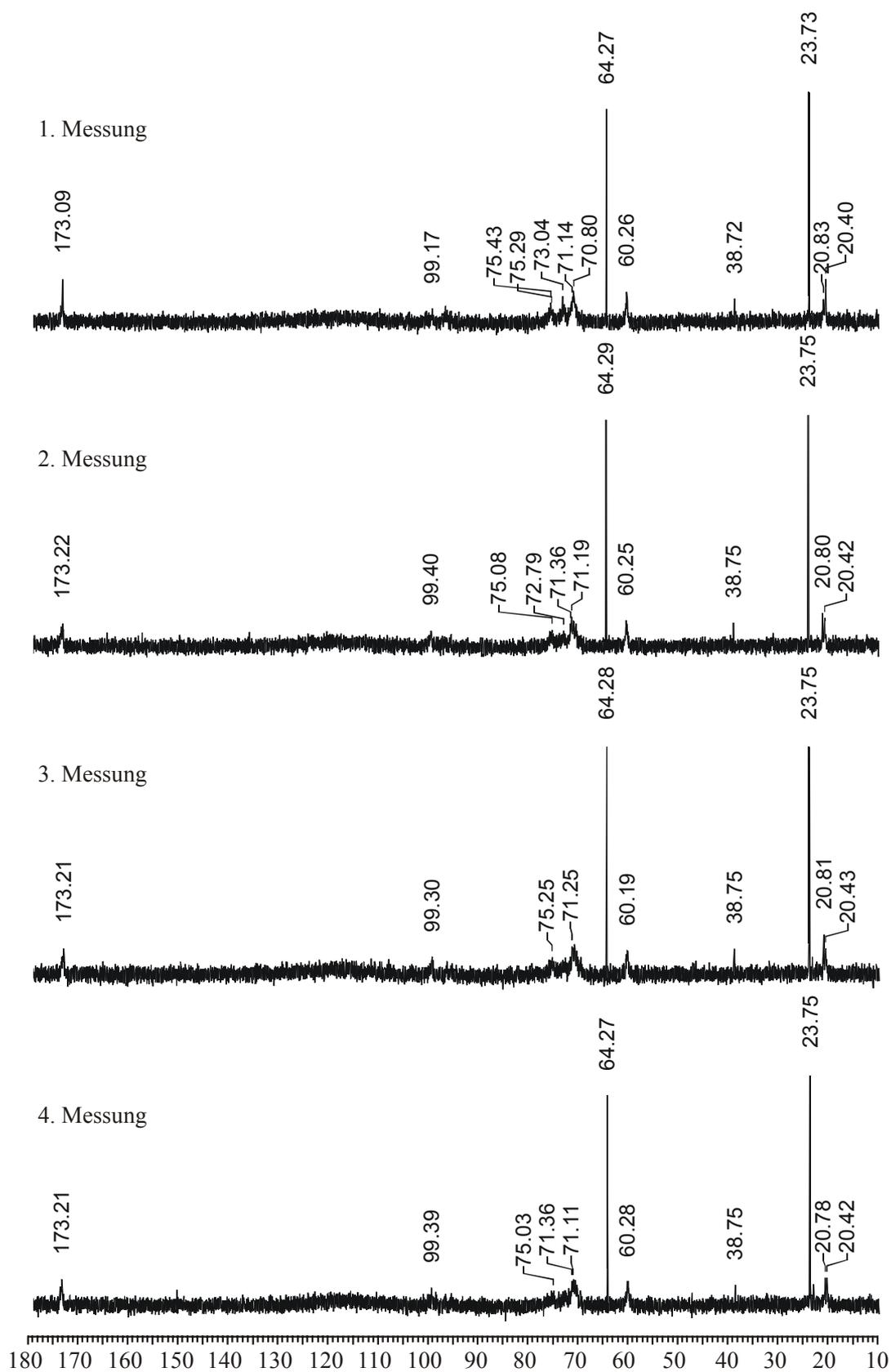


Abbildung 5.5-29  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren der in  $\text{D}_2\text{O}$  gelagerten Probe AS 18/8/00.

*Tabelle 5.5-15 Chemische Verschiebungen in ppm des  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrums mit Zuordnung zu den C-Atomen der in  $\text{D}_2\text{O}$  gelagerten Probe AS 16/8/00.*

Messung	C-1	C-2, C-3, C-4, C-5	C-6	C-7	C-8
1		69,00 – 75,02	60,15	173,10	20,44 - 20,78
2	99,41	69,56 – 75,20	60,21	173,20	20,38 - 20,81
3	99,42	69,98 – 74,99	60,18	173,18	20,43 - 20,84
4	99,35	69,52 - 75,14	60,29	173,19	20,40 - 20,78

*Tabelle 5.5-16 Chemische Verschiebungen in ppm des  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrums mit Zuordnung zu den C-Atomen der in  $\text{D}_2\text{O}$  gelagerten Probe AS 18/8/00.*

Messung	C-1	C-2, C-3, C-4, C-5	C-6	C-7	C-8
1	99,17	70,45 - 75,43	60,26	173,09	20,40 - 20,83
2	99,40	70,24 - 75,08	60,25	173,22	20,42 - 20,80
3	99,30	69,50 - 75,25	60,19	173,21	20,43 - 20,81
4	99,39	69,64 - 75,03	60,28	173,21	20,42 - 20,78

Von den in reinem Wasser gelagerten Proben AS 16/8/00 und AS 18/8/00 wurden nach 108 Tagen Lagerungszeit die Lösungen gefriergetrocknet. Nach Trocknen dieser Proben wurden sie in  $\text{D}_2\text{O}$  gelöst und mittels I gated  $^{13}\text{C}$ -NMR vermessen. Zum Vergleich wurden die Originalproben, welche zuvor noch nicht in Lösung waren, ebenfalls vermessen. Ein I gated Spektrum ermöglicht die Bestimmung des Substitutionsgrades. Der Substitutionsgrad DS ergibt sich (s. **Gleichung 5.5-1**) hierbei aus dem Anteil der Substitution  $x_i$  an den möglichen Substitutionspositionen 2, 3 und 6, wobei „i“ die jeweils substituierte Stelle bezeichnet.

$$DS = x_2 + x_3 + x_6 \quad \text{Gleichung 5.5-1}$$

Die Berechnung des Substitutionsgrades aus dem Spektrum ergibt sich nach **Gleichung 5.5-2**.

$$DS = \frac{A_{\text{C-8}}}{A_{\text{C-1}}} \quad \text{Gleichung 5.5-2}$$

Hierbei ist  $A_{\text{C-8}}$  die Fläche des Integrals unter dem Peak der dem C-Atom an Position 8 zugeordnet ist.  $A_{\text{C-1}}$  ist die Fläche unter dem Peak des C-Atoms an Position 1, wobei hier

sowohl die unsubstituierte als auch die substituierte Fläche  $A_{C-1 \text{ an } 2 \text{ subst.}}$  eingeht. Die partielle Substitution  $x_2$  an C-1 erhält man gemäß **Gleichung 5.5-3**.

$$x_2 = \frac{A_{C-1 \text{ an } 2 \text{ subst.}}}{A_{C-1}} \quad \text{Gleichung 5.5-3}$$

Bei den hier vorliegenden Proben ist keine Substitution an Position C-6 vorhanden. Ansonsten ergäbe sich der partielle Substitutionsgrad  $x_6$  laut **Gleichung 5.5-4**.

$$x_6 = \frac{A_{C-6 \text{ subst.}}}{A_{C-6}} \quad \text{Gleichung 5.5-4}$$

Den partiellen Substitutionsgrad  $x_3$  schließlich erhält man nach **Gleichung 5.5-5**.

$$x_3 = DS - x_2 - x_6 \quad \text{Gleichung 5.5-5}$$

In **Abbildung 5.5-30** und **5.5-31** sind jeweils die Spektren der Originalproben sowie der 108 Tagen in reinem Wasser gelagerten Proben dargestellt und die Peaks den jeweiligen C-Atomen zugeordnet. **Tabelle 5.5-17** und **5.5-18** geben die chemischen Verschiebungen, den Substitutionsgrad und die partiellen Substitutionsgrade der original sowie der 108 Tage in reinem Wasser gelagerten Proben an.

*Tabelle 5.5-17 Chemische Verschiebungen in ppm der  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektren mit Zuordnung zu den C-Atomen, Substitutionsgrad und partiellen Substitutionsgraden Probe AS 16/8/00.*

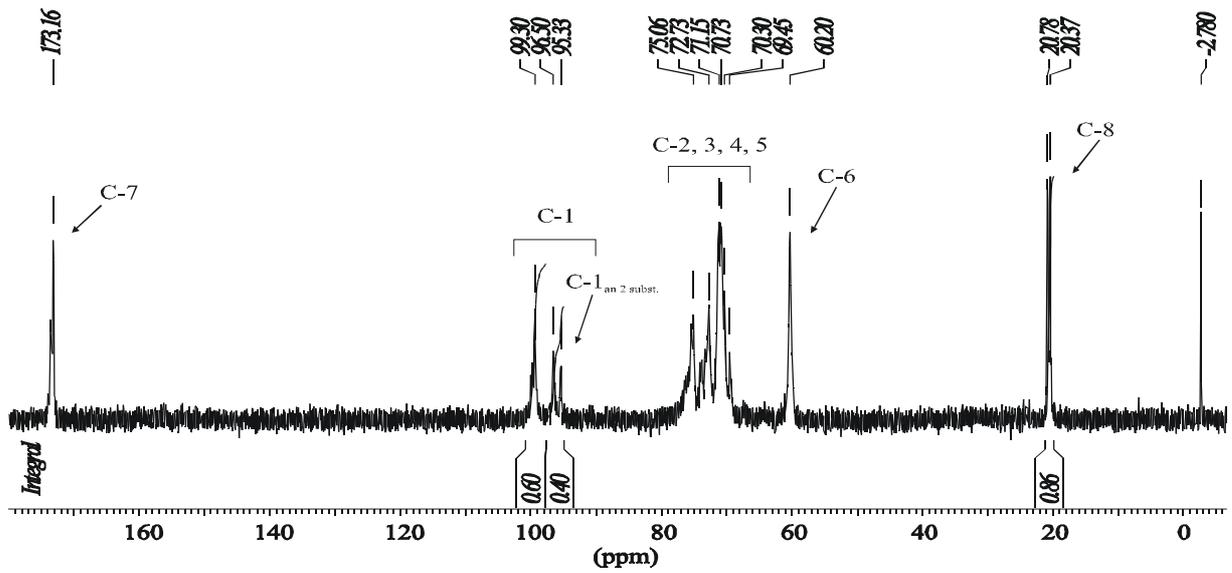
Probe	C-1 und C-1 <sub>an 2 subst.</sub>	C-2, C-3, C-4, C-5	C-6	C-7	C-8	DS	$x_2$	$x_3$
original	99,30 - 99,80, 95,33 - 96,50	69,45 - 75,06	60,20	173,16	20,37 - 20,78	0,86	0,40	0,46
gelagert	99,37 - 99,84, 95,42 - 96,58	69,54 - 75,07	60,26	173,25 - 173,65	20,46 - 20,84	0,87	0,39	0,48

*Tabelle 5.5-18 Chemische Verschiebungen in ppm der <sup>13</sup>C-NMR Spektren mit Zuordnung zu den C-Atomen, Substitutionsgrad und partiellen Substitutionsgraden Probe AS 18/8/00.*

Probe	C-1 und C-1 <sub>an 2 subst.</sub>	C-2, C-3, C-4, C-5	C-6	C-7	C-8	DS	x <sub>2</sub>	x <sub>3</sub>
original	99,28, 95,32- 96,50	69,38 - 75,32	60,21	173,04	20,38 - 20,75	0,94	0,56	0,38
gelagert	99,35, 95,41 - 96,60	70,35 - 75,44	60,29	173,23	20,43 - 20,82	0,93	0,56	0,37

Die Übereinstimmung der Peaklagen ist sehr gut, es fällt jedoch auf, daß sich insbesondere die partiellen Substitutionsgrade verändert haben. Für die Originalprobe AS 16/8/00 ergibt sich ein Substitutionsgrad DS von 0,86 (V. Haack: 0,82) mit einer Substitution an C-2 von 0,40 und C-3 von 0,46. Die gelagerte Probe zeigt einen DS von 0,87 mit 0,39 an C-2 und 0,48 an C-3. Die Originalprobe AS 18/8/00 weist einen DS von 0,94 auf (V. Haack: 0,94) mit 0,56 an C-2 und 0,38 an C-3. Die gelagerte Probe AS 18/8/00 hat einen DS von 0,93 mit 0,56 an C-2 und 0,37 an C-3. Somit scheint es bei der Probe AS 16/8/00 zu einer Wanderung der Acetylgruppe von Position C-2 zu Position C-3 während der Lagerung gekommen zu sein. Im Falle der Probe AS 18/8/00 scheinen sich in Position C-3 Acetylgruppen abgespalten zu haben.

AS 16/8/00 original



AS 16/8/00 gelagerte Probe

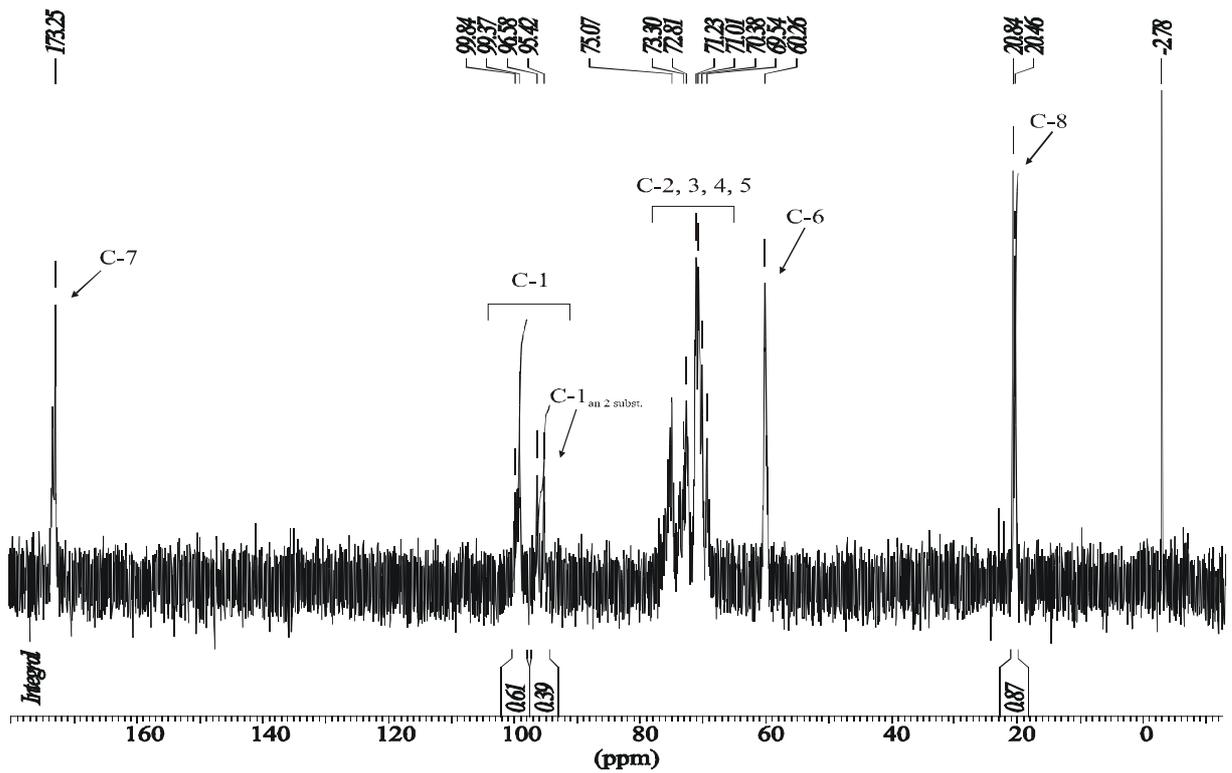
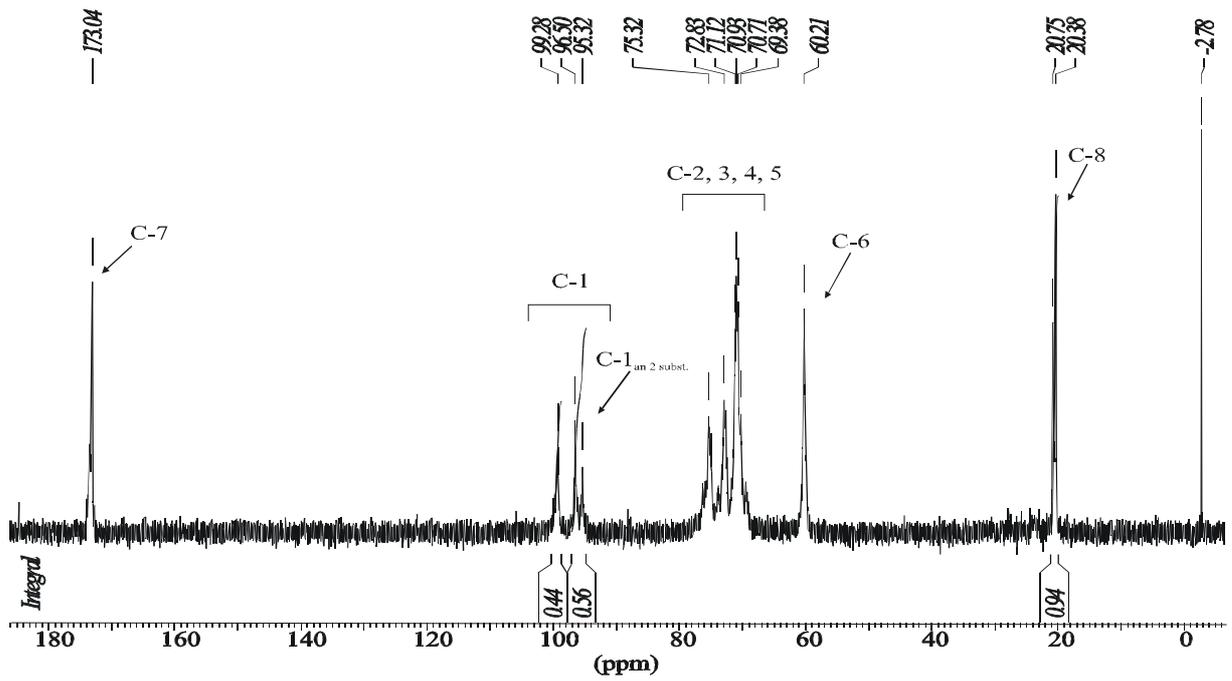


Abbildung 5.5-30 I gated  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren der Originalprobe und der 108 Tage in  $\text{D}_2\text{O}$  gelagerten Probe AS 16/8/00 mit TSP als internen Standard.

AS 18/8/00 original



AS 18/8/00 gelagerte Probe

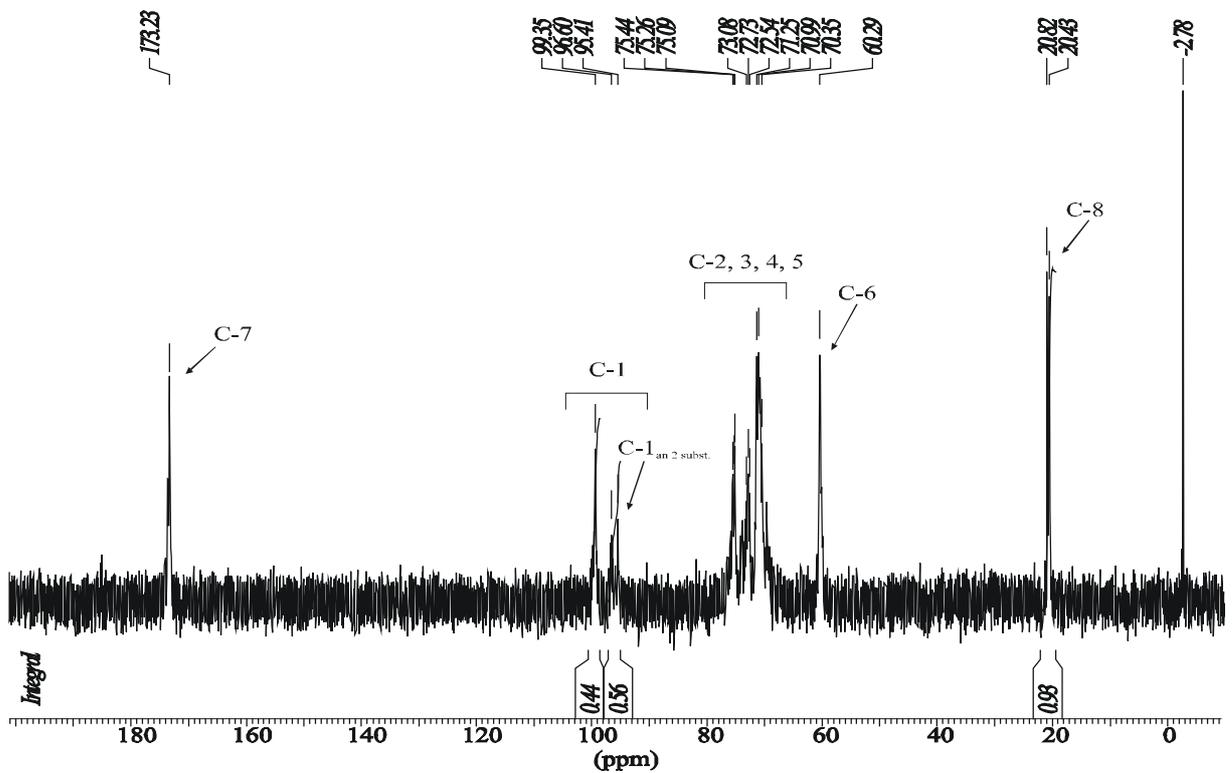


Abbildung 5.5-31 I gated  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren der Originalprobe und der 108 Tage in  $\text{D}_2\text{O}$  gelagerten Probe AS 18/8/00 mit TSP als internen Standard.

## 5.6 Untersuchungen an Hydroxypropylstärke

Die chemische Beschreibung und das technische Herstellungsverfahren der Hydroxypropylstärke (HPS) ist in Kapitel 2.4.3 Hydroxypropylstärke beschrieben worden.

Hydroxypropylstärken (HPS) werden unter anderem im Gießverfahren zu Folien verarbeitet. Es ist bekannt, daß bei ungewaschenen Proben die Folien aufgrund des Salzgehaltes oft brüchig werden. Die Proben mit Kartoffelstärke als Ausgangsstoff haben in der Regel eine Molmasse von 1 - 100 Millionen<sup>1</sup>. Ungewaschene Proben werden zur Papierbeschichtung eingesetzt. Die Fragestellung ist, ob die Molmassenverteilungen einen Einfluß auf die Qualität der Folien haben.

Vom Fraunhofer Institut für Polymerforschung, Golm, wurden von Frau Dr. Vorweg sechs Hydroxypropylstärke-Proben aus Kartoffelstärke zur Verfügung gestellt. Die Proben wurden von der Firma Emsland-Stärke GmbH im Slurry-Verfahren hergestellt und unterscheiden sich in der Aufarbeitung nach der Hydroxypropylierung. So bestand der Probenatz - wie in **Tabelle 5.6-1** zusammengefaßt- zur Hälfte aus ungewaschenen und zur anderen Hälfte aus gewaschenen Proben, des weiteren unterscheiden sich die Proben in der Art der Trocknung nach der Modifizierung. Alle Proben haben einen Substitutionsgrad DS von 0,1, der von der Firma Emsland-Stärke mittels Titration bestimmt wurde.

*Tabelle 5.6-1 Übersicht über den Probensatz der Hydroxypropylstärken (HPS) unterteilt nach der Aufarbeitungs- und Trocknungsart. In Klammern ist der jeweilige Trockengehalt der Probe in Prozent angegeben.*

ungewaschen			gewaschen		
Trocknungsart			Trocknungsart		
Luft	Walze	Luft / Extruder	Luft	Walze	Luft / Extruder
HPS 1 (84,28 %)	HPS 2 (94,84 %)	HPS 3 (87,18 %)	HPS 4 (82,03 %)	HPS 5 (95,34 %)	HPS 6 (87,68 %)

Die Proben sollten in Rahmen dieser Arbeit hinsichtlich ihrer Molmasse und deren Verteilung charakterisiert werden.

<sup>1</sup> Radosta, S., Fraunhofer Institut für Polymerforschung, Golm, persönliche Mitteilung Februar 2000.

Zur Bestimmung der Molmassen sowie deren Verteilungen standen verschiedene Charakterisierungssysteme zur Verfügung: Einen Hinweis auf die Größe der Moleküle und deren Raumbedarf in Lösung liefert die Viskosimetrie. Die Bestimmung der Molmassen und deren Verteilung ist durch Kopplung einer Fraktioniereinheit mit der Vielwinkellichtstreuung und Konzentrationsdetektion möglich. Als Fraktioniereinheit standen die Größenausschlußchromatographie (SEC), die symmetrische Fluß Feld-Fluß Fraktionierung (sFFFF) und die asymmetrische Fluß Feld-Fluß Fraktionierung (aFFFF) zur Auswahl.

Schon vorher ist ein ähnlicher Probensatz im Arbeitskreis<sup>2</sup> mittels SEC und sFFFF gekoppelt mit MALLS und RI untersucht worden. Hierbei wurden die Proben in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid 20 Stunden bei 90°C unter Rühren gelöst und die erhaltenen Trüben wurden ohne weitere Behandlung vermessen. Eine Evaluierung der Trennmethode ergab, daß sich die SEC aufgrund von Größenausschluß als ungeeignet erwies. Die Proben sind mittels sFFFF/MALLS/RI vermessen worden, wobei jedoch eine Basislinienkorrektur nötig war. Auffallend war die schlechte Reproduzierbarkeit und Inhomogenität der einzelnen Proben. Als Ergebnisse wurde erhalten, daß die ungewaschenen Proben eine schmalere Molmassenverteilung aufweisen. Die ungewaschene, an Luft getrocknete Probe zeigte die höchste Molmasse mit 71.670.000 g/mol. Bei den anderen Trocknungsmethoden ist kein eindeutiger Trend zu beobachten. Die Polydispersität der über Walze getrockneten Proben wurde als höher festgestellt als die der an Luft getrockneten.

Wie schon in der Arbeit von D. Heins zu sehen, erweist sich die Charakterisierung der niedrig substituierten Hydroxypropylstärken unter Anwendung geläufiger Löse- und Meßmethoden als schwierig. Es lag ein inhomogenes Ausgangsmaterial vor, welches keine monodispers gelösten Proben ergab.

Eingehende Lösungsversuche an den Proben ermöglichten, die Proben in einen Lösungszustand zu überführen, im dem visuell klare Lösungen vorlagen. Als beste Lösungsmethode erwies sich Lösen mit Hilfe eines Autoklaven. Hierbei wurden 0,67 %ige Lösungen hergestellt. Die Probensubstanz und das Lösungsmittel wurden im Autoklaven unter Rühren für eine Stunde erhitzt. Nach anschließender Zentrifugation für 60 Minuten

---

<sup>2</sup> Heins, D., „*Charakterisierung von Stärkederivaten mittels Größenausschlußchromatographie, Fluß-Feldfluß-Fraktionierung und Lichtstreuung*“, Dissertation Universität Hamburg, Shaker Verlag Aachen, **2000**, 95.

bei 15000 /min, bei der eventuelle feste Bestandteile abgetrennt werden sollten, erhielt man für alle Proben klare Lösungen.

Als einen ersten Hinweis auf den Raumbedarf der Proben und für einen Vergleich der Proben untereinander wurden viskosimetrische Messungen ausgeführt.

Die Messungen wurden in einem Kapillarviskosimeter nach Ubbelode bei 25°C durchgeführt. Die **Tabelle 5.6-2** zeigt die ermittelten Staudinger-Indizes  $[\eta]$  sowie die dazugehörigen Regressionskoeffizienten der einzelnen Proben.

*Tabelle 5.6-2 Staudinger-Indizes  $[\eta]$  mit den Standardabweichungen aus den einzelnen Messungen und deren Regressionskoeffizienten der Hydroxypropylstärken.*

Probe	$[\eta]$ (cm <sup>3</sup> /g)	Regressionskoeffizient
HPS 1	108,8 ± 28,4	0,989 ± 0,002
HPS 2	102,3 ± 2,1	0,996 ± 0,002
HPS 3	73,2 ± 7,9	0,987 ± 0,012
HPS 4	145,2 ± 11,8	0,992 ± 0,006
HPS 5	122,2 ± 2,9	0,983 ± 0,016
HPS 6	82,9 ± 3,8	0,988 ± 0,010

Die Viskosimetriemessungen ergaben sehr kleine Staudinger-Indizes  $[\eta]$ . Dies ist ein deutlicher Hinweis auf eine starke Verzweigung oder Aggregation der Moleküle. Die Viskosimetrie ist für verzweigte Systeme nur bedingt geeignet, da die theoretischen Grundlagen auf linearen Molekülen basieren. Die Regressionskoeffizienten sämtlicher Messungen sind dennoch sehr gut. In **Abbildung 5.6-1** sind exemplarisch für die Messungen die Auftragung von  $\eta_{\text{spez}}/c$  gegen  $c$  zur Ermittlung des Staudinger-Indices  $[\eta]$  von zwei Proben aufgetragen.

Bei den Bestimmungen des Staudinger-Indices  $[\eta]$  fiel auf, daß die Proben HPS 1 und HPS 4, die an Luft getrocknet worden sind, die größten Abweichungen bei Wiederholungsmessungen aufweisen und auch die größten Abweichungen bei den einzelnen Messungen im Bezug auf den Staudinger-Index haben. Nachfolgend in der Fehlerabweichung sind die Proben HPS 3 und HPS 6, welche durch Trocknung Luft/Extruder aufgearbeitet wurden. Die Proben HPS 2 und HPS 5, welche mittels Walze getrocknet wurden, lieferten die besten Übereinstimmungen der Mehrfachbestimmungen.

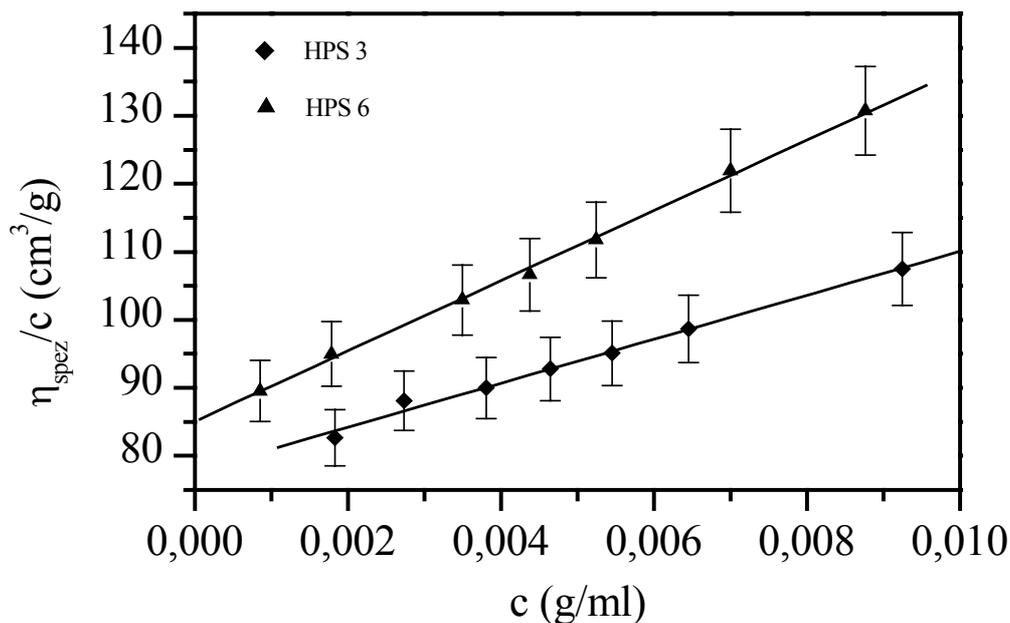


Abbildung 5.6-1 Darstellung von zwei viskosimetrischen Messungen von den über Walze getrockneten Proben HPS 3 und HPS 6 zur Ermittlung des Staudinger-Indices  $[\eta]$ .

Bezüglich der unterschiedlichen Aufarbeitungsweisen läßt sich ein deutlicher Trend im Verhalten der Proben hinsichtlich des Staudinger-Indices  $[\eta]$  finden: Die mittels Luft/Extruder getrockneten Proben zeigen - unabhängig davon, ob sie ungewaschen oder gewaschen waren - die kleinsten Staudinger-Indices  $[\eta]$ , die mittels Walze getrockneten einen mittleren und die Luft getrockneten Proben die höchsten Staudinger-Indizes. Die Reproduzierbarkeit der Luft getrockneten Proben war am schlechtesten, während die über Walze getrockneten hier die besten Ergebnisse lieferten.

Zur Überprüfung der Fraktionierungsmethode wurden die durch Autoklavenaufschluß gelösten Proben nochmals mittels SEC/MALLS/DRI vermessen.

In fast allen Fällen zeigen die Lösungen der Proben Größenausschluß. Als Beispiel hierfür ist in **Abbildung 5.6-2** eine Messung der Probe HPS 3 dargestellt. Hierbei steigen Konzentrations- und Streulichtsignal zeitgleich sofort nach Durchlaufen des Totvolumens steil an.

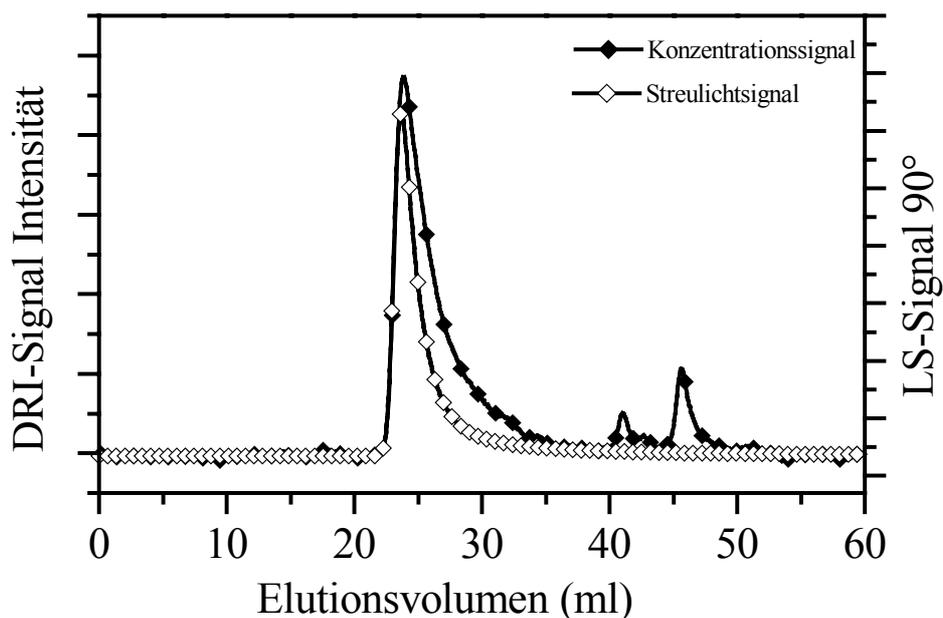


Abbildung 5.6-2 Darstellung von Konzentrations- (geschlossene Symbole) und Streulichtsignal (offene Symbole) der Probe HPS 3 als Beispiel für den Größenausschluß.

Die Messungen der einzelnen Lösungen sind reproduzierbar, jedoch nicht die Vergleichslösungen derselben Probe. Besonders deutlich wird dies bei den Proben HPS 1 und HPS 6, bei denen jeweils eine Vergleichslösung keinen Größenausschluß zeigt, die andere hingegen. Dies ist in **Abbildung 5.6-3** nochmals am Beispiel der Probe HPS 6 verdeutlicht. Vergleichslösung 1 zeigt in Streulichtsignal bei dieser Probe bimodales Verhalten, Vergleichslösung 2 ist nur monomodal. Der Anstieg des Streulichtsignals ist im Falle von Lösung 1 ebenfalls nicht so steil. Dies ist ein Hinweis auf die Inhomogenität der Proben.

Die Wiederfindungsraten aller Proben sind nicht zufriedenstellend, so daß zu vermuten ist, daß ein Teil der Proben schon vom on-line-Filter bzw. der Vorsäule zurückgehalten wurde.

Einige Proben lassen aufgrund ihres Elutionsverhaltens und des Verhaltens nach den Messungen - langes Spülen zum Erreichen von konstanten Basiswerten - auf Wechselwirkungen mit dem Säulenmaterial schließen, die sich nicht aufgrund von Ladungen erklären lassen. Dies sind vor allem die Proben HPS 4, HPS 5, und HPS 6. Besonders deutlich treten diese Wechselwirkungen bei der Probe HPS 4 auf. In **Abbildung 5.6-4** ist

das Elutionsdiagramm des Streulichtsignals einer nach Abschluß der vorhergehenden unmittelbar wiederholten Messung dargestellt. Hier treten innerhalb des Totvolumens von 0 bis 21 ml Peaks auf.

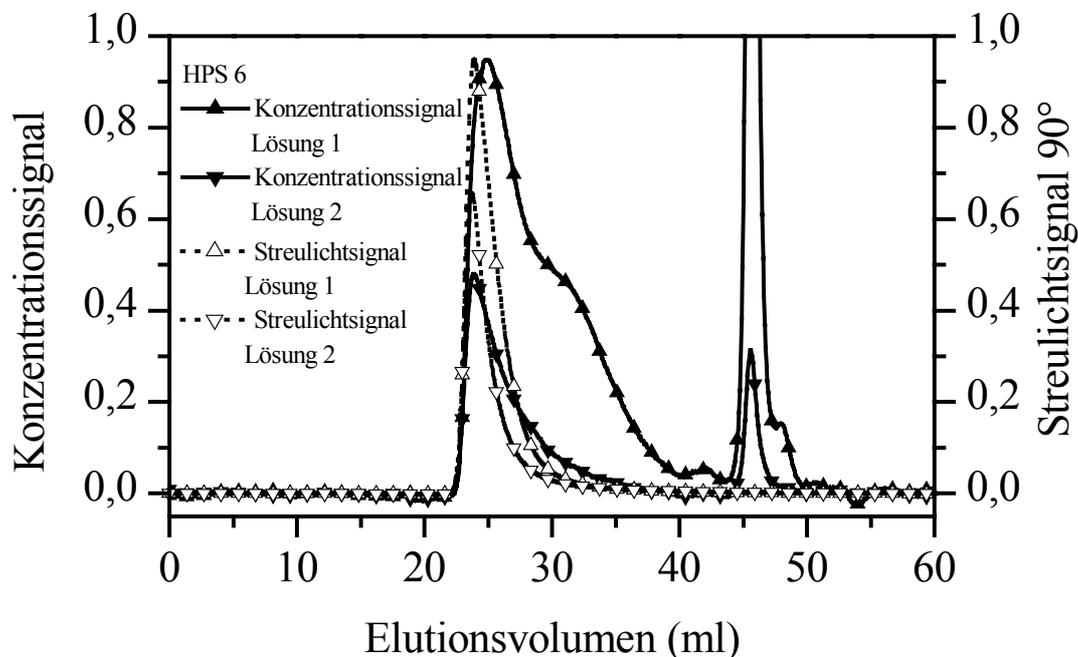


Abbildung 5.6-3 Beispiel des unterschiedlichen Verhaltens verschiedener Lösungen derselben Probe anhand von Probe HPS 6. Abgebildet sind die Konzentrations- (geschlossene Symbole) und Streulichtsignale (offene Symbole) der verschiedenen Lösungen.

Den Proben, die Wechselwirkungen mit dem Säulenmaterial aufweisen, ist gemeinsam, daß sie im Aufarbeitungsschritt gewaschen worden sind.

Bei einigen Proben (HPS 3, HPS 2 und HPS 5) steigen die Radien im Verlauf der Elution ab einem Elutionsvolumen von ca. 26,5 ml wieder an. Für die Probe HPS 5 ist dies in **Abbildung 5.6-5** dargestellt.

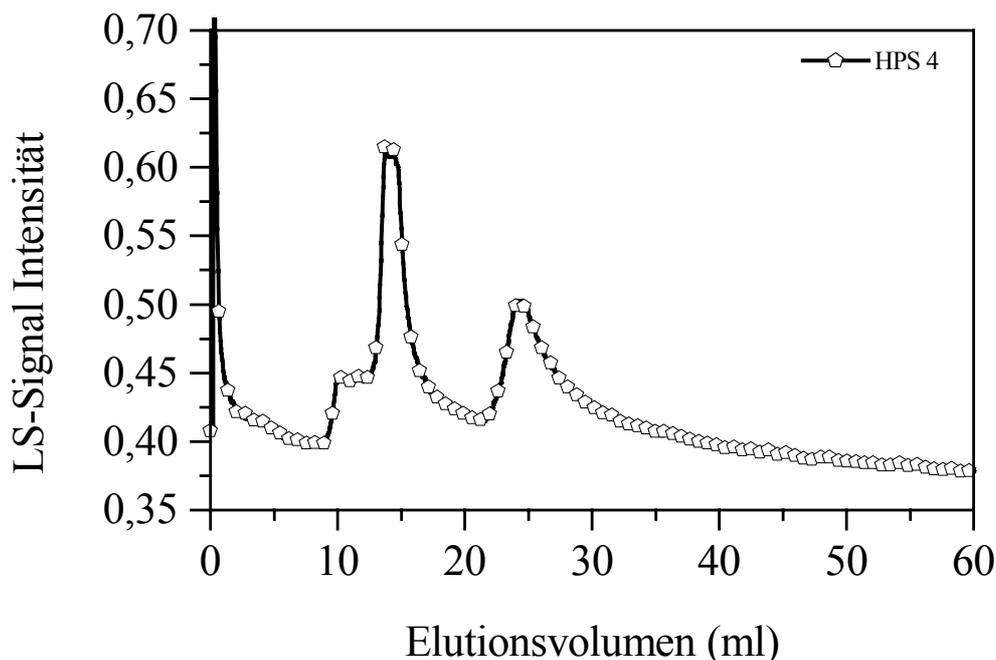


Abbildung 5.6-4 Darstellung der Wechselwirkungen von Probenmaterial mit dem Säulenmaterial anhand von Probe HPS 4. Die erneute Messung wurde unmittelbar nach Vermessen derselben Probe aufgenommen. Es treten Peaks innerhalb des Totvolumens ( $< 21$  ml) auf.

Dieses spricht prinzipiell gegen den Mechanismus des Größenausschlusses und könnte auf Wechselwirkungen mit dem Säulenmaterial zurückzuführen sein, so daß größere Teilchen später als nach dem theoretischen Mechanismus eluieren. Nach Vermessen der Probe war eine lange Spüldauer erforderlich, um wieder einen konstanten Basiswert zu erreichen. Eine andere Erklärungsmöglichkeit für dieses Phänomen ist die Bildung von Aggregaten/Assoziaten, die nach Trennung der Fraktionen wieder einsetzt, wobei aufgrund des Verhaltens der Proben Wechselwirkungen mit dem Säulenmaterial als wahrscheinlicher anzusehen sind.

Damit erweist sich die SEC als ungeeignete Methode zur Fraktionierung der Hydroxypropylstärke. Zusammenfassend sind als ausschließende Gründe der Größenausschluß, die sehr geringen Wiederfindungsraten, die wahrscheinlich auf Abtrennung von aggregat-haltigen Anteilen basieren, sowie Wechselwirkungen zwischen Proben- und Säulenmaterial zu nennen.

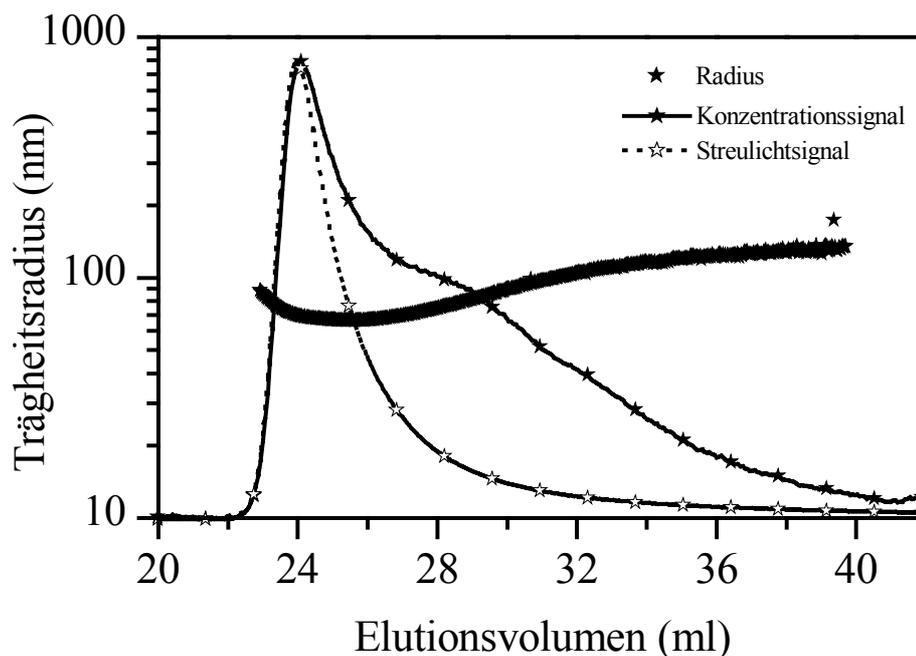


Abbildung 5.6-5 Elutionsdiagramm des Radius anhand von Probe HPS 5. Deutlich ist ein Anstieg des Radius nach 30 ml Elutionsvolumen zu erkennen. Hinterlegt ist die Grafik mit Konzentrations- (durchgezogene mit geschlossenen Symbolen) und Streulichtsignal (durchgezogene Linie mit offenen Symbolen).

Auch der Einsatz der symmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung (sFFFF) zeigt keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Die Probe HPS 1 zeigt bei den verschiedenen Lösungen abweichende Ergebnisse um zwei Zehnerpotenzen. Die ungewaschene, über Walze getrocknete Probe HPS 2 hat mit rund 60 % schlechte Wiederfindungsraten und eine schlechte Reproduzierbarkeit der einzelnen Messungen. Gute Wiederfindungsraten, aber eine schlechte Reproduzierbarkeit unter den einzelnen Messungen zeigt sich bei HPS 3. HPS 6 ließ sich aufgrund von Wechselwirkungen mit der Membran nicht vermessen. Die Probe HPS 5 zeigt wie auch Probe HPS 2, die ebenfalls über Walze getrocknet wurde, schlechte Reproduzierbarkeiten zwischen den verschiedenen Probelösungen. Für die Probe HPS 6 war selbst die Reproduzierbarkeit der einzelnen Lösung nicht gegeben. In **Abbildung 5.6-6** ist exemplarisch für die schlechte Reproduzierbarkeit das Elutionsdiagramm im Konzentrations- und Streulichtsignal der Probe HPS 6 abgebildet. Hierbei handelt es sich um die Aufnahme zweier Lösungen der Probe unter gleichen Fraktionierungsbedingungen.

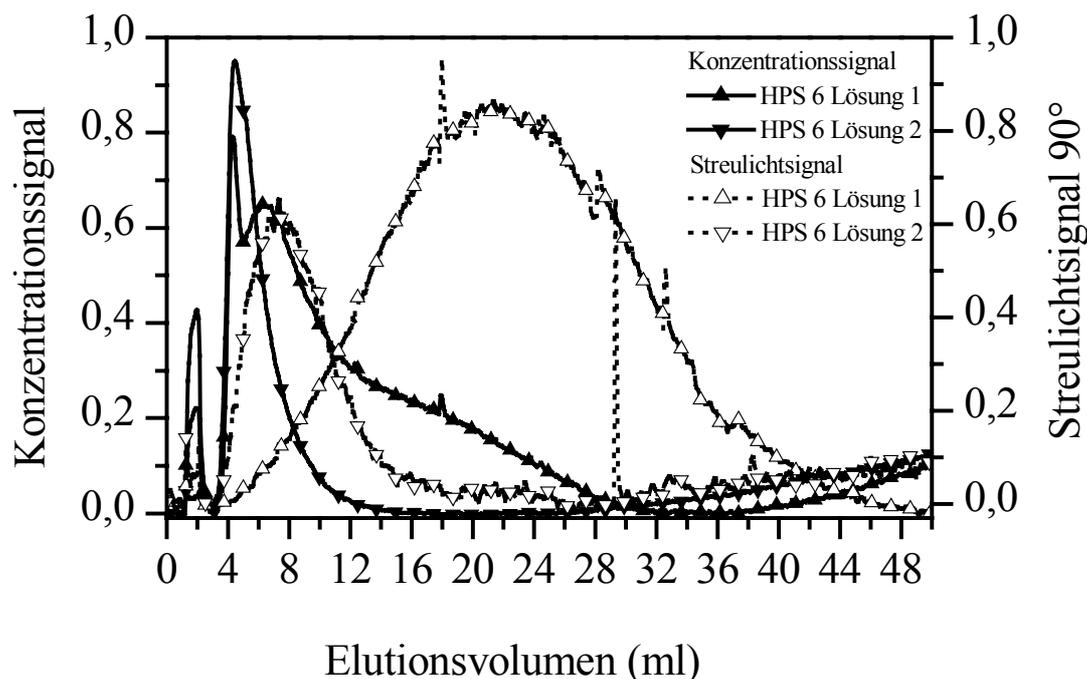


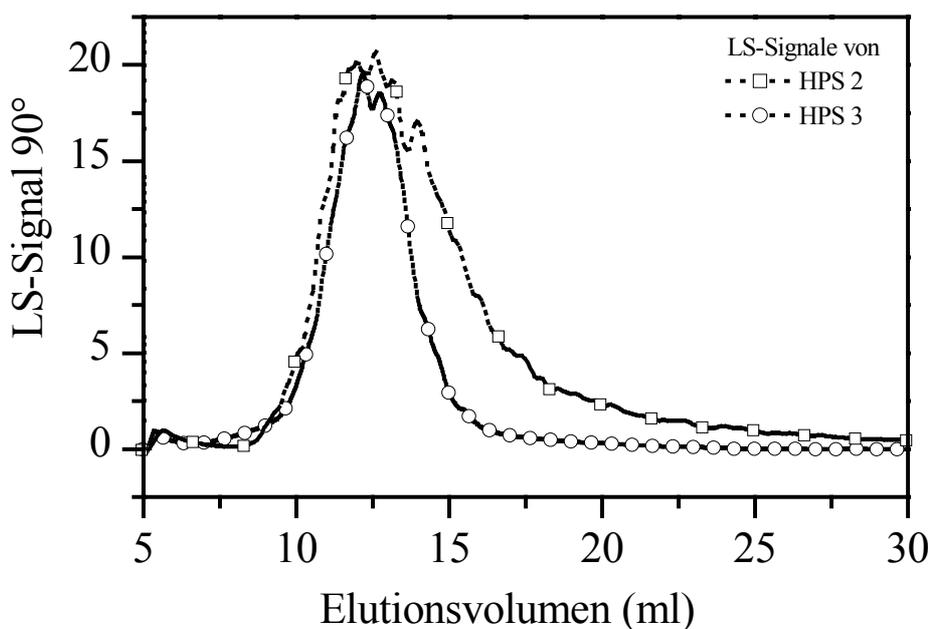
Abbildung 5.6-6 Verlauf der relativen Konzentration (geschlossene Symbole) und der Streulichtintensität (offene Symbole) bei 90° von zwei verschiedenen Lösungen der Probe HPS 6 der sFFFF/MALLS/RI-Messung. (Bedg.:  $\dot{V}_x = 0,47 \text{ ml/min}$ ,  $\dot{V}_z = 1 \rightarrow 0 \text{ ml/min}$  (120 min)).

Bei den Messungen sämtlicher Proben kam die Schwierigkeit hinzu, daß von den Proben jeweils nur sehr wenig Substanz aufgegeben werden konnte, da sonst die Signalintensität des Streulichts zu hoch war. Große Teilchen verursachen auch schon bei sehr geringen Konzentrationen starke Streulichtintensitäten. Die dadurch bedingten geringen Konzentrationen ergeben in der Auswertung recht hohe Fehler. Dies gibt einen Hinweis darauf, daß in den Proben ein zumindest geringer Anteil an sehr großen Teilchen vorhanden ist. Die Wahl der Meßbedingungen war in allen Fällen sehr schwer zu optimieren, was sich auf eine recht breite Verteilung zurückführen läßt. Da es meist auch schwierig war, den niedermolekularen Anteil vom Void-Peak zu trennen, ist hier wiederum ein Hinweis auf kleine Probenbestandteile gegeben, was die Wahrscheinlichkeit, daß sehr breit verteilte Molmassenverteilungen bei den Proben vorliegen, noch erhöht.

Der Einsatz der asymmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierung (aFFFF) als Fraktionierungsmethode sollte klären, ob eine Trennung und Vermessung der Proben überhaupt möglich ist. Aufgrund des moderneren Datenerfassungsprogramms sind mehr Variations-

möglichkeiten gegeben; u.a. kann beispielsweise über einen längeren Zeitraum eine Datenaufnahme erfolgen, so daß auch große Teilchen, die erst spät eluieren, erfaßt werden können. Die Konstruktionsweise des Kanal ermöglicht es darüber hinaus, die aufgegebene Probe an einer bestimmten Stelle zu fokussieren und zu konzentrieren.

Alle sechs Proben zeigen sowohl im Streulicht- als auch im Konzentrationssignal mindestens bimodales Verhalten. Mit Ausnahme der Probe HPS 6, welche trimodales Verhalten zeigt, waren die Verläufe des Streulichtsignals bimodal. In **Abbildung 5.6-7** sind exemplarisch für alle Proben mit Ausnahme von HPS 6 die Elutionsdiagramme bezüglich des Streulichtsignals der Proben HPS 2 und HPS 3 dargestellt. Bei allen Proben erscheint im Elutionsbereich von 5 bis 10 Minuten ein kleiner Peak. Die Auswertung dieses Peaks ist in fast allen Fällen möglich.



*Abbildung 5.6-7 Elutionsverlauf der Streulichtintensitäten bei einem Winkel von 90° der Proben HPS 2 und HPS 3, exemplarisch für alle Streulichtsignalverläufe der Proben mit Ausnahme von HPS 6.*

Die Probe HPS 6 weist eine Trimodalität im Verlauf des Streulichtsignals auf, die durch eine Schulter am Hauptpeak zu kleineren Elutionsvolumina zu erkennen ist, wie in **Abbildung 5.6-8** dargestellt. Das Konzentrationssignal dieser Probe weist aber nur eine Bimodalität auf, so daß sich der Bereich der Schulter nicht auswerten läßt.

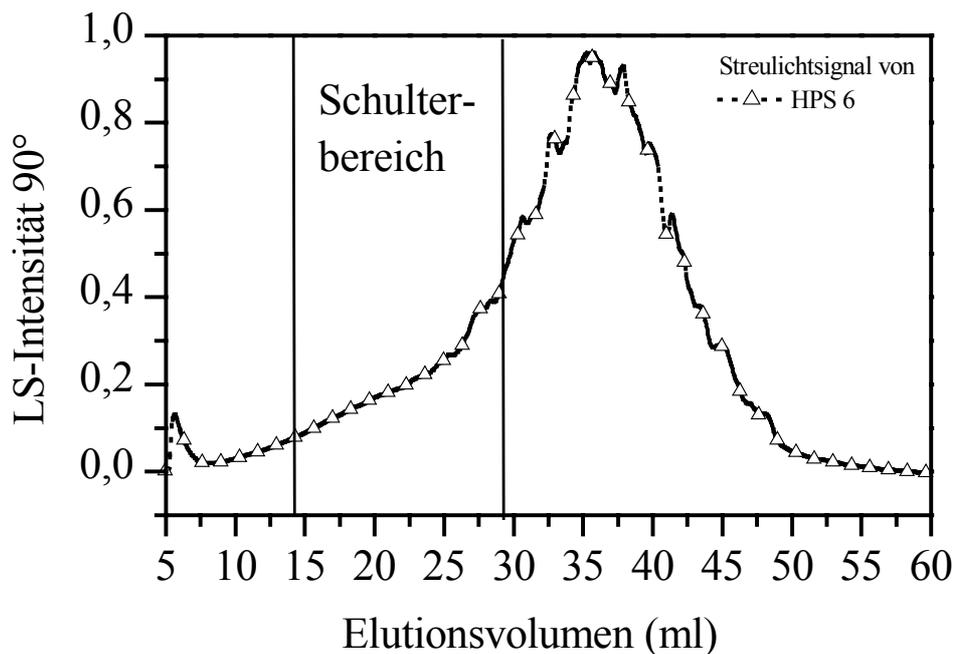


Abbildung 5.6-8 Elutionsverlauf der Streulichtintensität bei einem Winkel von  $90^\circ$  der Probe HPS 6.

Die Konzentrationsverläufe sind für die Proben HPS 1, HPS 4, HPS, wie in **Abbildung 5.6-9** gezeigt, und für HPS 6 bimodal. Aufgrund der geringen Substanzmengen, die injiziert werden konnten, sind die Signale recht verrauscht, lassen sich aber mit guter Reproduzierbarkeit auswerten.

Die Proben HPS 2 und HPS 3 weisen im Konzentrationssignal eine Trimodalität auf. Die Konzentrationsverläufe sind in **Abbildung 5.6-10** und **5.6-11** dargestellt.

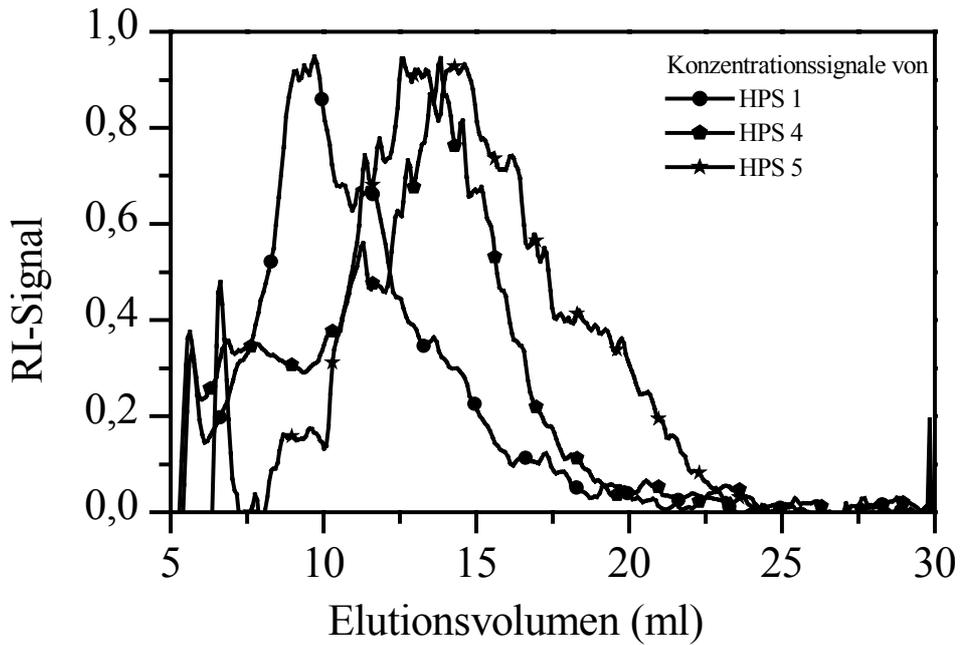


Abbildung 5.6-9 Elutionsverlauf der Konzentrationsintensitäten der Proben HPS 1, HPS 4 und HPS 5.

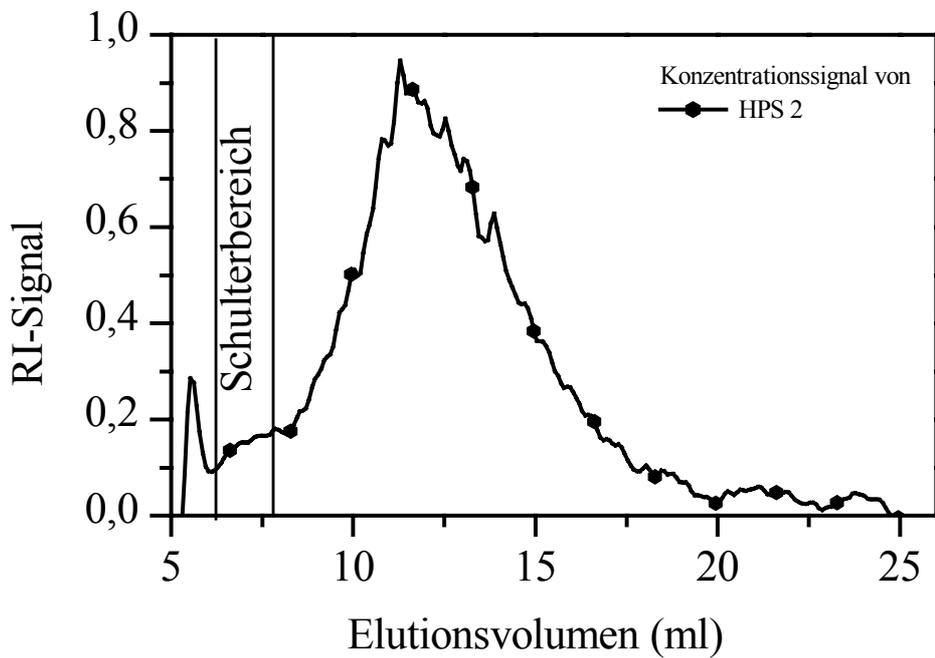


Abbildung 5.6-10 Elutionsverlauf der Konzentrationsintensitäten der Probe HPS 2.

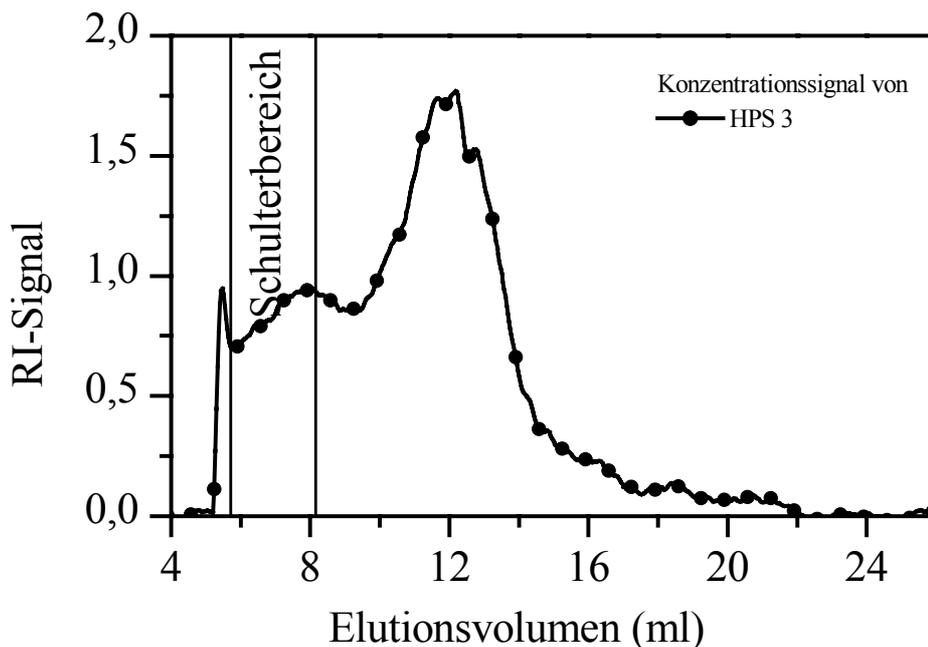


Abbildung 5.6-11 Elutionsverlauf der Konzentrationsintensitäten der Probe HPS 3.

Von allen Proben lassen sich nur je zwei Peaks auswerten. Zu Beginn der Elution ist in allen Fällen ein kleiner Peak zu erkennen. Die Auswertung dieses Peaks ist mit einem relativ hohen Fehler behaftet, da nur eine geringe Konzentration zu finden ist. Dieses Problem ist besonders bei der Probe HPS 4, welche im zweiten Peak gute Übereinstimmungen zeigt, an der Uneinheitlichkeit der Ergebnisse zu erkennen. Auch Probe HPS 2 weist im Vergleich zu den anderen eine schlechtere Reproduzierbarkeit bei den Werten des ersten Peaks auf. Der zweite und auch der Hauptpeak der Proben lässt sich mit Ausnahme von Probe HPS 6 gut reproduzieren und auswerten. Die schlechte Auswertbarkeit bei Probe HPS 6 lässt sich auf die Trimodalität im Verlauf des Streulichtsignals zurückführen. Eine Trennung des Hauptpeak von der Schulter gelang jedoch auch bei Wahl verschiedener Elutionsbedingungen nicht.

In **Abbildung 5.6-12** sind die Verläufe der kumulativen Molmassenverteilungen der Hauptpeaks angegeben. Probe HPS 5 weist die höchsten Molmassen der Proben auf. Aufgrund der unterschiedlichen Ergebnisse, die von Probe HPS 6 erhalten worden sind, sind von dieser Probe einmal der kumulative Verlauf mit den niedrigsten Ergebnissen und der mit den höchsten Ergebnissen dargestellt. Diese Probe liefert insgesamt die kleinsten Molmassen, gefolgt von der Probe HPS 4.

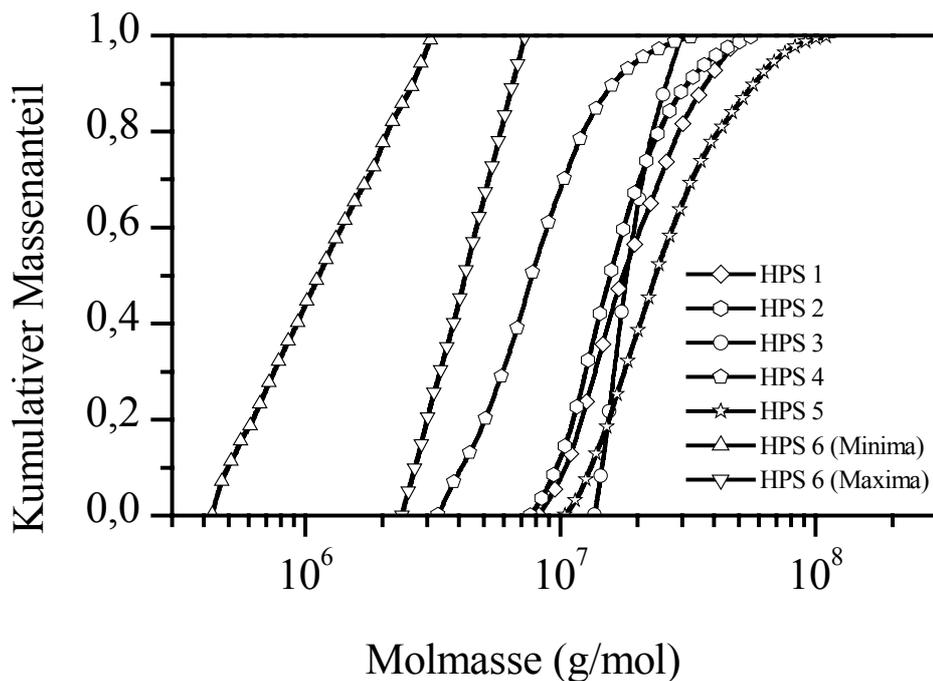


Abbildung 5.6-12 Kumulative Molmassenverteilungen der HPS-Proben. Für HPS 6 sind der Verlauf mit den kleinsten und der mit den höchsten Ergebnissen angegeben.

In **Tabelle 5.6-3** sind die Ergebnisse der Messungen dargestellt. Für alle Proben wurde die Wiederfindungsrate über den gesamten Elutionsbereich angegeben. HPS 1 und besonders HPS 5 zeigen schlechte Wiederfindungsraten. Im Fall der Probe HPS 4 sind für den ersten Peak aufgrund der schlechten Reproduzierbarkeit wegen der geringen Konzentration die gefundenen Molmassenbereiche der einzelnen Messungen angegeben. Für die Probe HPS 6 wurden für den zweiten Peak die Minima- und Maximawerte der Molmassen angegeben. Die Probe HPS 3 läßt sich nur über einen relativ geringen Bereich der Gesamtmasse auswerten. Für diese Probe wurden insgesamt die höchsten Molmassenwerte gefunden. Die Qualität der Signalintensitäten für diese Probe ist besonders in Hinsicht auf das Konzentrationssignal relativ schlecht, so daß die Auswertung eines größeren Bereichs der Probe zu hohen Fehlern führt.

Die gefundenen hohen gewichtsmittleren Molmassen  $M_w$  von 700.000 bis 6,7 Mio. g/mol für den ersten Peak bzw. 1,3 – 21 Mio. g/mol für den zweiten Peak deuten darauf hin, daß die Hydroxypropylstärken keinen oder nur einen geringen Schaden durch das gewählte Löseverfahren erlitten haben, so daß es gelang, wertvolle Informationen über diese Proben zu erhalten.

Tabelle 5.6-3 Ergebnisse der mittels aFFFF/MALLS/RI charakterisierten HPS Proben.

Probe	HPS 1	HPS 2	HPS 3	HPS 4	HPS 5	HPS 6
WR* ges. (%)	76,6	93,5	91,1	90,4	67	100
$M_w/M_n$ ges.	4,6	3,2	7,3	9,5	3,4	5,5
Peak 1						
$M_n$ (kg/mol)	2.062	3.262	835	2.558 - 3.127	5.260	690
$M_w$ (kg/mol)	2.116	3.961	875	3.020 - 3.647	6.725	693
$M_z$ (kg/mol)	2.171	4.361	916	3.647 - 4.343	9.751	695
$M_w/M_n$	1,0	1,1	1,1	1,16 - 1,18	1,3	1,0
WR* (%)	2,3	1,8	5,7	0,9	1,3	4,7
Peak 2						
$M_n$ (kg/mol)	18.960	15.195	17.290	7.959	21.575	965 - 3.992
$M_w$ (kg/mol)	20.905	19.085	17.840	9.537	29.750	1.355 - 4.415
$M_z$ (kg/mol)	23.660	24.385	19.365	11.765	42.300	1.805 - 4.850
$M_w/M_n$	1,1	1,3	1,0	1,2	1,4	1.1 - 1,4
WR* (%)	57,9	74,4	20,0	81,9	64,1	73-100

\*WR = Wiederfindungsrate

Die Polydispersität über den gesamten Peakbereich ist mit Werten zwischen 3,2 und 9,5 für alle Proben recht hoch. Die Probe HPS 4 weist hier die höchste Polydispersität auf.

Die Proben, die Luft/Extruder getrocknet wurden, zeigen die kleinsten Molmassen auf. Bezüglich der anderen Trocknungsarten ist kein Trend zu erkennen. Die gewaschenen Proben haben im Vergleich zu den ungewaschenen im ersten Peak eine höhere Molmasse. Im Hauptpeak ist aber diesbezüglich kein Trend zu sehen.

## 5.7 Vergleich der Lagerstabilitätsuntersuchungen an Wachsmaisstärke, Hydroxyethylstärke und Acetylstärke

In den vorangegangenen Kapiteln ist über die Lagerstabilitätsuntersuchungen an Wachsmaisstärke, Hydroxyethylstärke und Acetylstärke berichtet worden. Hier soll ein kurzer Überblick im Vergleich gegeben werden.

Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren aller Proben zeigen während der Lagerung hinsichtlich der Lage der chemischen Verschiebungen keine Veränderungen. Lediglich die Igated  $^{13}\text{C}$ -NMR-

Spektren der in reinem Wasser gelagerten Acetylstärken zeigen bezüglich des Substitutionsgrades und -musters eine Veränderung. Die Abweichungen sind jedoch relativ gering und lassen sich auch mit Ungenauigkeiten bei der Auswertung erklären.

Die Proben der Wachmaisstärke 4/8/00 mit einer gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  von 414.000 g/mol und einer Polydispersität  $M_w/M_n$  von 4,4 und 16/8/00 mit einer gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  von 221.000 g/mol und einer Polydispersität  $M_w/M_n$  von 3,1 sind erwartungsgemäß nicht in Lösung lagerstabil. Auffallend ist bei allen Vergleichslösungen, daß nach 81 Tagen Lagerung ein Sprung in der Molmasse auftritt. Dieser ist bei der niedermolekularen Probe 16/8/00 weitaus stärker ausgeprägt als bei der höhermolekularen Probe 4/8/00. Bis zum 81. Tag der Lagerung verläuft der Molmassenabbau kontinuierlich.

Bei der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagerten Wachmaisstärke-Probe 4/8/00 nimmt die Molmasse zunächst auf 172.000 g/mol ab, was 42 % der Ausgangsmolmasse entspricht. Nach dem Molmassenanstieg nach 81 Tagen Lagerung wird letztendlich ein Molmassenwert  $M_w$  von 115.000 g/mol erreicht, was 28 % der Ausgangsmolmasse ausmacht. Der Abbau der in reinem Wasser gelagerten Probe verläuft wesentlich schneller als der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung. Hier sinkt die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  nach 74 Tagen auf 15 % der Ausgangsmolmasse und hat einen Wert von 63.000 g/mol. Nach einem leichten Anstieg der Molmasse wird nach 109 Tagen Lagerung eine gewichtsmittlere Molmasse von 34.000 g/mol, also 8 % der Ausgangsmolmasse, erreicht.

Das Verhalten der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Wachmaisstärke-Probe 16/8/00 entspricht bis zu 74 Tagen der Lagerung bezogen auf die normierte Molmasse dem der höhermolekularen Probe 4/8/00. Danach tritt ein Sprung in der Molmasse ein, wobei die Molmasse Werte über der der Ausgangsmolmasse annimmt. Der Wert, welcher mit weiterer Lagerung zwar wieder sinkt, erreicht jedoch keine kleineren Werte als die Ausgangsmolmasse. Die in reinem Wasser gelagerte Probe 16/8/00 stimmt in ihrem Verhalten mit den in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelösten Proben überein. Hier ist der Anstieg der Molmasse nach 81 Tagen Lagerung hingegen nicht derart gravierend wie es bei der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung der Fall ist.

Die beiden untersuchten Hydroxyethylstärken HES P + L 1025 und HES AK B verhalten sich hinsichtlich der Lagerung unterschiedlich. So weist die in wäßriger 0,1 M Natrium-

nitratlösung gelagerte Probe HES P + L 1025 über den gesamten betrachteten Bereich eine konstante Molmasse auf. Die in reinem Wasser gelagerte Probe HES P +L 1025 zeigt bei den beiden Vergleichslösungen unterschiedliches Verhalten. Beide Vergleichslösungen nehmen kontinuierlich hinsichtlich ihrer Molmasse ab. In den einem Fall sinkt dabei die Molmasse auf einen Werte von 41 % (70.000 g/mol), in dem anderen auf 16 % (28.000 g/mol) der Ausgangsmolmasse von 170.000 g/mol ab.

Die leicht höhermolekulare Probe HES AK B erweist sich auch in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagert nicht als stabil. Die Molasse sinkt linear innerhalb von 108 Tagen von einer Ausgangsmolmasse von 198.000 g/mol auf 162.000 g/mol, also 82 %, ab. Hierbei verhalten sich die Vergleichslösungen nahezu gleich. Die in reinem Wasser gelagerten Proben zeigen stark unterschiedliches Verhalten hinsichtlich der Molmasse. So sinkt die gewichtsmittlere Molmasse der einen Vergleichslösung innerhalb von 108 Tagen auf einen Wert von 152.000 g/mol, was 77 % der Ausgangsmolmasse entspricht, während die andere auf einen Wert zu 47.000 g/mol, also 24 %, zurückgeht.

Bei den untersuchten Acetylstärken zeigt sich eine Abhängigkeit der Lagerstabilität von der Molmasse. So erweisen sich die hochmolekularen Proben AS 1/8/00 und AS 4/8/00 mit gewichtsmittleren Molmassen von 517.000 g/mol bzw. 709.000 g/mol nicht als stabil, die niedermolekularen Proben AS 16/8/00 und AS 18/8/00 mit gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  von 263.000 g/mol bzw. 152.000 g/mol sind sowohl in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid als auch in reinem Wasser gelagert stabil. Bei den höhermolekularen in wäßriger 0,1 m Natriumnitratlösung gelagerten Proben AS 1/8/00 und AS 4/8/00 verhalten sich die Vergleichslösungen gleich, während die in reinem Wasser gelagerten Vergleichslösungen unterschiedlich schnell abbauen.

In **Abbildung 5.7-1** ist die normierte Molmasse gegen die Lagerungsdauer der nicht stabilen, in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200ppm Natriumazid gelagerten Proben dargestellt. Gut zu erkennen ist das abweichende Verhalten der Wachsmaisstärkeproben nach 81 Tagen Lagerung. Alle anderen Proben nehmen analog hinsichtlich der normierten gewichtsmittleren Molmasse ab.

Der Vergleich der Wachsmaisstärken und der daraus hergestellten Acetylstärken ist interessant. In **Abbildung 5.7-2** sind die kumulativen Molmassenverteilungen der höhermolekularen Wachsmaisstärke 4/8/00 und der Acetylstärke AS 4/8/00 gelagert in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung zu Beginn und am Ende der Lagerungsdauer dargestellt.

Hierbei ist zu erkennen, daß die Molmassen der Acetylstärken erwartungsgemäß über denen der Wachsmaisstärken liegen. Deutlich zu erkennen ist das unterschiedliche Abbauverhalten der Wachsmaisstärke im Vergleich zur Acetylstärke.

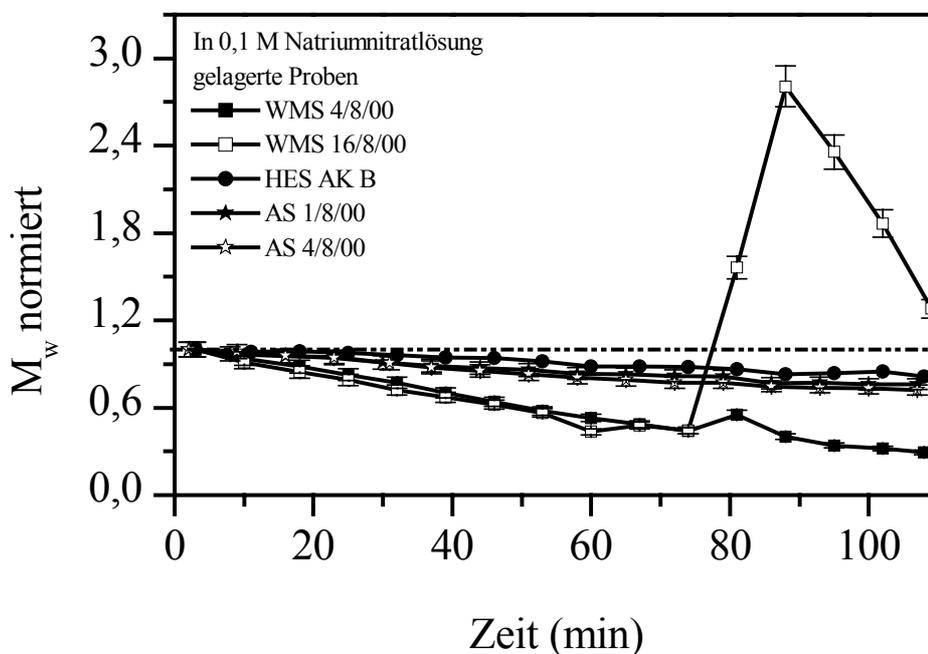


Abbildung 5.7-1 Normierte Molmasse gegen die Lagerungsdauer der nicht lagerstabilen, in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Proben.

In **Abbildung 5.7-3** sind die kumulativen Molmassenverteilungen der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Wachsmaisstärke 16/8/00 und der daraus hergestellten Acetylstärke AS 16/8/00 gezeigt. Auch hier liegt die Molmasse der Acetylstärke über der der Wachsmaisstärke. Die 109 Tage gelagerte Probe WMS 16/8/00 zeigt das ungewöhnliche Verhalten hinsichtlich der Lagerung, bei der ein Teil der Molmasse über der der Ausgangsprobe liegt. Die niedermolekulare Acetylstärke AS 16/8/00 ist stabil hinsichtlich der Lagerungsdauer.

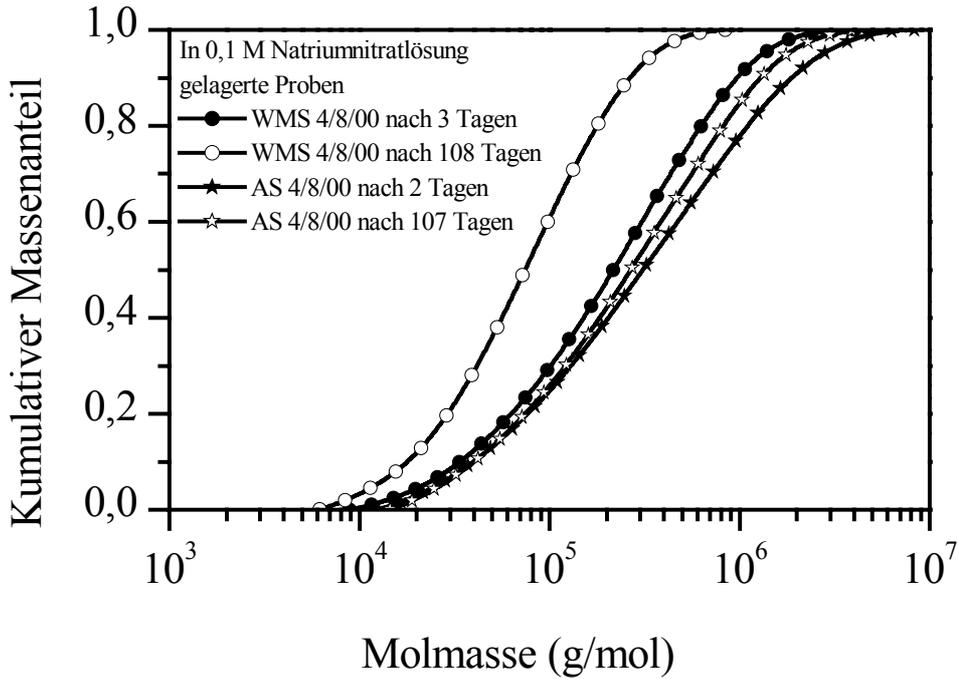


Abbildung 5.7-2 Kumulative Molmassenverteilungen der in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung gelagerten Wachsmaisstärke 4/8/00 und der daraus hergestellten Acetylstärke AS 4/8/00 zu Beginn und am Ende der Lagerung.

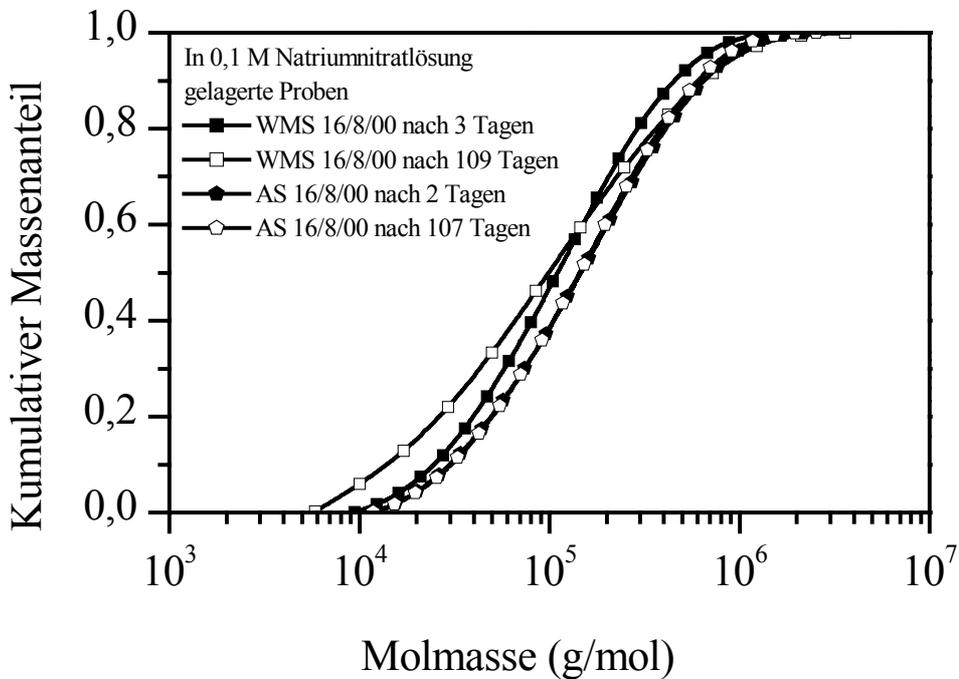


Abbildung 5.7-3 Kumulative Molmassenverteilungen der Wachsmaisstärke 16/8/00 und der daraus hergestellten Acetylstärke AS 16/8/00 zu Beginn und am Ende der Lagerung.

## 5.8 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen

An den untersuchten Systemen können aus den SEC/MALLS/RI-Messungen  $R_G$ - $M$ -Beziehungen aufgestellt werden und mit Hilfe der Fox-Flory-Theorie in Mark-Houwink-Beziehungen ( $[\eta]$ - $M$ -Beziehungen) umgerechnet werden. Aus den viskosimetrischen Bestimmungen lassen sich bei bekannter Molmasse ebenfalls die Mark-Houwink-Beziehungen aufstellen und hieraus die  $R_G$ - $M$ -Beziehungen berechnen. Die Theorie gilt strenggenommen nur für lineare, monomolekulare Substanzen. Die untersuchten Proben decken das Spektrum von linearen Makromolekülen, den Glucanen, über „leicht“ verzweigte Systeme, den Guarkernmehlen, zu verzweigten Systemen, den Stärke-Derivaten ab. In diesem Abschnitt soll die Leistungsfähigkeit der Theorie überprüft werden und eventuelle Übereinstimmungen oder Unterschiede zwischen den einzelnen Systemen herausgestellt werden.

### 5.8.1 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Glucane

In Kapitel 5.1 Untersuchungen an Glucanen sind bereits die Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Probe GG 300 „II“, Hauptpeak und des carboxymethylierten  $\beta$ -(1,3)-D-Glucans aufgestellt worden. Von diesen Proben wurden aufgrund zu geringer Probenmenge keine viskosimetrischen Bestimmungen durchgeführt. Die in **Tabelle 5.8.1-1** dargestellten  $R_G$ - $M$ -Beziehungen und die daraus berechneten  $[\eta]$ - $M$ -Beziehungen ergeben sich aus den SEC/MALLS/RI-Messungen.

*Tabelle 5.8.1-1  $R_G$ - $M$ -Beziehungen aus SEC/MALLS/RI-Messungen und die daraus berechneten  $[\eta]$ - $M$ -Beziehungen der Probe GG 300 „II“ und des carboxymethylierten  $\beta$ -(1,3)-D-Glucans.*

Probe	$R_G$ - $M$ -Beziehung	$[\eta]$ - $M$ -Beziehung
GG 300 „II“, Hauptpeak	$R_G = 0,074 \cdot M^{0,51}$	$[\eta] = 1,403 \cdot M^{0,53}$
carboxymethyliertes $\beta$ -(1,3)-D-Glucan	$R_G = 0,025 \cdot M^{0,58}$	$[\eta] = 0,036 \cdot M^{0,74}$

Für die Proben GG 165 „0“ bis „III“ lassen sich bei den bei Raumtemperatur fraktionierten Proben keine physikalisch sinnvollen Beziehungen aufstellen, da diese Proben Exponenten  $\nu$  der  $R_G$ - $M$ -Beziehung von 0,17 bis 0,32 ergeben. Sinnvoll für die Beschreibung der Molekülgestalt sind jedoch erst Werte ab  $\nu = 0,33$ . Gleiches gilt für die über den gesamten Peakbereich ausgewerteten, der bei 77,5°C fraktionierten Proben. Hier liegen die Werte von  $\nu$  im Bereich von 0,12 bis 0,17. Derartig kleine Werte weisen auf einen

hohen Aggregat-/Assoziatanteil hin. Die über den Hauptpeak ausgewerteten Proben geben die in **Tabelle 5.8.1-2** aufgeführten  $R_G$ -M-Beziehungen und die daraus berechneten  $[\eta]$ -M-Beziehungen wieder.

*Tabelle 5.8.1-2  $R_G$ -M-Beziehungen aus SEC/MALLS/RI-Messungen und die daraus berechneten  $[\eta]$ -M-Beziehungen der über den Hauptpeak ausgewerteten, bei 77,5°C fraktionierten Proben GG 165 „I“ bis „III“.*

Probe	$R_G$ -M-Beziehung	$[\eta]$ -M-Beziehung
GG 165 „I“, Hauptpeak	$R_G = 0,274 \cdot M^{0,40}$	$[\eta] = 124,5 \cdot M^{0,20}$
GG 165 „II“, Hauptpeak	$R_G = 0,301 \cdot M^{0,39}$	$[\eta] = 173,5 \cdot M^{0,17}$
GG 165 „III“, Hauptpeak	$R_G = 0,309 \cdot M^{0,39}$	$[\eta] = 186,0 \cdot M^{0,17}$
GG 165 „I“ bis „III“, Hauptpeak	$R_G = 0,309 \cdot M^{0,39}$	$[\eta] = 119,8 \cdot M^{0,17}$

Hierbei zeigen sich im Vergleich zu den beiden Proben GG 300 und carboxymethyliertes  $\beta$ -(1,3)-D-Glucan deutliche Anweichungen. Somit ist bei den Proben GG 165 „I“ bis „III“ von einer Aggregat-/Assoziatbildung auszugehen, da die chemische Struktur dieser Moleküle linear ist.

Diese Unstimmigkeiten finden sich auch in der Literatur wieder. So hat S. Lange<sup>3</sup> anhand der Untersuchungen an Gerstenglucanen eine  $R_G$ -M-Beziehung der Form  $R_G = 0,021 \cdot M^{0,57}$  und eine Mark-Houwink-Beziehung  $[\eta] = 0,062 \cdot M^{0,71}$  aufgestellt. Diese Werte stehen in guter Übereinstimmung mit denen des carboxymethylierten  $\beta$ -(1,3)-D-Glucans, welches monodispers gelöst vorliegt. Gómez et. al.<sup>4</sup> hingegen haben in ihren Untersuchungen für den Exponenten  $\nu$  der  $R_G$ -M-Beziehung einen Wert von 0,35, Grimm et. al.<sup>5</sup> sogar nur von  $\nu = 0,22$  ermitteln können. Damit liegen die Proben GG 165 mit den dort ermittelten Exponenten zwischen denen von Grimm und Gómez. Dies macht deutlich, daß die Herkunft und Behandlung der Probe einen großen Einfluß auf die Struktur-Eigenschafts-Beziehungen hat. Auch die Lösungsqualität der Proben geht stark in das erhaltene Ergebnis mit ein.

<sup>3</sup> Lange, S., „Bestimmung der Molmasse, der Molmassenverteilung und der Konformation von Polysacchariden und deren Derivaten aus nachwachsenden Rohstoffen“, Dissertation Universität Hamburg, 1999.

<sup>4</sup> Gómez, C., Navarro, A., Manzanares, P., Horta A., Carbonell, J. V., „Physical and structural properties of barley (1,3),(1,4)- $\beta$ -D-glucan. Part I. Determination of molecular weight and macromolecular radius by light scattering“, Carbohydr, Poly. 32, 1997, 7.

<sup>5</sup> Grimm, A.; Krüger, E., Burchard, W., „Solution properties of  $\beta$ -(1,3)(1,4)-glucan isolated from beer“, Carbohydr. Polym. 27, 1995, 205.

### 5.8.2 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Guarkernmehle

In Kapitel 5.2 Untersuchungen an Guarkernmehlen sind die Struktur-Eigenschafts-Beziehungen, welche man sowohl aus viskosimetrischen als auch den SEC/MALLS/RI-Messungen erhält, aufgestellt worden. **Tabelle 5.8.2-1** gibt eine Übersicht der Beziehungen.

*Tabelle 5.8.2-1  $R_G$ -M- und  $[\eta]$ -M-Beziehungen der Guarkernmehle PoSc und LuMe.*

Probe	$R_G$ -M-Beziehung	$[\eta]$ -M-Beziehung (berechnet)	$[\eta]$ -M-Beziehung	$R_G$ -M-Beziehung (berechnet)
PoSc	$0,053 \cdot M^{0,50}$	$0,563 \cdot M^{0,50}$	$0,352 \cdot M^{0,37}$	$3,02 \cdot 10^{-2} \cdot M^{0,11}$
LuMe	$0,043 \cdot M^{0,49}$	$0,304 \cdot M^{0,48}$	$0,069 \cdot M^{0,52}$	$1,33 \cdot M^{0,56}$

Aus den viskosimetrischen Messungen erhält man für beide Proben sinnvolle Beziehungen. Aus den SEC/MALLS/RI-Messungen trifft dies nur für die hochmolekulare Probe LuMe zu. Hier liegen die ermittelten Werte für die Exponenten um den  $\theta$ -Zustand, wobei man aus den SEC/MALLS/RI-Messungen eine leicht aufgeweitete, aus den viskosimetrischen Messungen eine leicht geschrumpfte Struktur gegenüber dem  $\theta$ -Zustand erhält. Bei den SEC/MALLS/RI-Messungen der niedermolekularen Probe PoSc könnte zum einen der ermittelte Radius mit einem relativ großen Fehler behaftet sein und zum anderen kann hier der Einfluß der Seitengruppen deutlich stärker in Erscheinung treten, als dies bei der hochmolekularen Probe der Fall ist.

### 5.8.3 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Hydroxyethylstärke-Proben

Von den untersuchten Hydroxyethylstärke-Proben wurden lediglich von der Probe HES P+L 1025 viskosimetrische und SEC/MALLS/RI-Messungen ausgeführt. Die mittels CPF getrennten HES-Proben sind nur mit Hilfe der SEC/MALLS/RI-Anlage vermessen worden. Der mit 9 nm ermittelte sehr kleine Radius der Probe HES P+L 1025 ist allerdings mit einem recht großen Fehler behaftet, was bei der Aufstellung der  $R_G$ -M-Beziehung berücksichtigt werden muß. In **Tabelle 5.8.3-1** sind die ermittelten Beziehungen aufgeführt.

Tabelle 5.8.3-1  $R_G$ -M- und  $[\eta]$ -M-Beziehungen Hydroxyethylstärke HES P + L 1025.

$R_G$ -M-Beziehung	$[\eta]$ -M-Beziehung (berechnet)	$[\eta]$ -M-Beziehung	$R_G$ -M-Beziehung (berechnet)
$0,016 \cdot M^{0,53}$	$0,012 \cdot M^{0,59}$	$1,043 \cdot M^{0,22}$	$0,056 \cdot M^{0,41}$

Von den mittels CPF getrennten HES-Proben wurden in Kapitel 5.4.2.2 Untersuchungen an mittels CPF getrennten HES-Proben  $R_G$ -M-Beziehungen aufgestellt und hieraus die  $[\eta]$ -M-Beziehungen berechnet. Bei diesen Proben erhält man einen Exponenten  $\nu$  zwischen 0,41 und 0,47. Damit stimmen die Daten mit den viskosimetrischen Bestimmungen an der Probe HES P + L 1025 recht gut überein. Die Werte liefern einen starken Hinweis auf die Verzweigung der Moleküle, mit Werten über 0,33 lassen sich Aggregatanteile jedoch nahezu ausschließen. Diese Werte stimmen jedoch nicht mit denen von Granath et. al.<sup>6</sup> ( $R_G = 3,94 \cdot M^{0,45}$ ) ermittelten überein. Wie auch schon bei den Glucanen festgestellt, kommt es bei der Ermittlung der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen auch hier entscheidend auf die Probe selber an. So könnten Substitutionsgrad und -muster ebenfalls auf die Struktur-Eigenschafts-Beziehung maßgeblichen Einfluß haben.

#### 5.8.4 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Acetylstärke-Proben

Von den in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelösten Acetylstärken konnten nur von den hochmolekularen Proben AS 1/8/00 und AS 4/8/00 die  $R_G$ -M-Beziehungen zu Beginn der Lagerung mittels SEC/MALLS/RI-Messungen bestimmt werden. Für die niedermolekularen Proben AS 16/8/00 und AS 18/8/00 waren die Radien zu klein. Von allen Proben wurden viskosimetrische Messungen durchgeführt.

Die Probe AS 1/8/00 ergibt aus den SEC/MALLS/RI-Messungen die in **Tabelle 5.8.4-1** aufgeführten Ergebnisse. Die Messungen nach mehr als zwei Monaten Lagerungsdauer ergeben keine sinnvollen und vergleichbaren Radien.

<sup>6</sup> Granath, K. A., Strömberg, R., de Belder, A. N., „*Studies on Hydroxyethyl Starch*“, Stärke 21 (10), 1969, 251.

*Tabelle 5.8.4-1 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Proben AS 1/8/00 aus SEC/MALLS/RI-Messungen.*

Zeit (Monat)	$M$ (g/mol)	$R$ (nm)	$\nu$	$R_G$ -M-Beziehung	$[\eta]$ -M-Beziehung (berechnet)
1	517.000	20	0,35	$0,201 \cdot M^{0,35}$	$61,48 \cdot M^{0,05}$
2	471.000	19	0,35	$0,209 \cdot M^{0,35}$	$69,94 \cdot M^{0,05}$

Die aus den viskosimetrischen Messungen bestimmten Struktur-Eigenschafts-Beziehungen sind in **Tabelle 5.8.4-2** dargestellt.

*Tabelle 5.8.4-2 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Proben AS 1/8/00 aus viskosimetrischen Messungen.*

Zeit (Monat)	$M$ (g/mol)	$[\eta]$ -M-Beziehung	$R_G$ -M-Beziehung (berechnet)
1	517.000	$1,246 \cdot M^{0,19}$	$0,059 \cdot M^{0,40}$
2	471.000	$1,357 \cdot M^{0,18}$	$0,060 \cdot M^{0,39}$
3	432.000	$1,308 \cdot M^{0,18}$	$0,059 \cdot M^{0,39}$
4	399.000	$1,479 \cdot M^{0,17}$	$0,062 \cdot M^{0,39}$

Die Beziehungen aus den viskosimetrischen Messungen zeigen ein recht einheitliches Bild. Die Abweichung zu den aus den SEC/MALLS/RI-Messungen ermittelten Daten ist jedoch sehr groß.

Gleiches ergibt die Probe AS 4/8/00, deren SEC/MALLS/RI-Ergebnisse in **Tabelle 5.8.4-3** und deren Daten aus den viskosimetrischen Messungen in **Tabelle 5.8.4-4** dargestellt sind. Hier ließ sich trotz höherer Molmasse schon nach einem Monat Lagerungsdauer kein reproduzierbarer Radius ermitteln.

*Tabelle 5.8.4-3 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Proben AS 4/8/00 aus SEC/MALLS/RI-Messungen.*

Zeit (Monat)	$M$ (g/mol)	$R$ (nm)	$\nu$	$R_G$ -M-Beziehung	$[\eta]$ -M-Beziehung (berechnet)
1	709.000	25	0,38	$0,150 \cdot M^{0,38}$	$22,15 \cdot M^{0,14}$

*Tabelle 5.8.4-4 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Proben AS 4/8/00 aus viskosimetrischen Messungen.*

Zeit (Monat)	$M$ (g/mol)	$[\eta]$ -M-Beziehung	$R_G$ -M-Beziehung (berechnet)
1	709.000	$1,476 \cdot M^{0,17}$	$0,062 \cdot M^{0,39}$
2	642.000	$1,541 \cdot M^{0,17}$	$0,063 \cdot M^{0,39}$
3	571.000	$1,511 \cdot M^{0,17}$	$0,062 \cdot M^{0,39}$
4	529.000	$1,585 \cdot M^{0,16}$	$0,063 \cdot M^{0,39}$

Von den Proben AS 16/8/00 und AS 18/8/00 sind die aus den viskosimetrischen Messungen ermittelten Daten in **Tabelle 5.8.4-5** und **5.8.4-6** aufgeführt.

*Tabelle 5.8.4-5 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Proben AS 16/8/00 aus viskosimetrischen Messungen.*

Zeit (Monat)	$M$ (g/mol)	$[\eta]$ -M-Beziehung	$R_G$ -M-Beziehung (berechnet)
1	263.000	$1,136 \cdot M^{0,19}$	$0,057 \cdot M^{0,40}$
2	263.000	$1,283 \cdot M^{0,18}$	$0,059 \cdot M^{0,39}$
3	263.000	$1,471 \cdot M^{0,17}$	$0,061 \cdot M^{0,39}$
4	263.000	$1,559 \cdot M^{0,16}$	$0,062 \cdot M^{0,39}$

*Tabelle 5.8.4-6 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Proben AS 18/8/00 aus viskosimetrischen Messungen.*

Zeit (Monat)	$M$ (g/mol)	$[\eta]$ -M-Beziehung	$R_G$ -M-Beziehung (berechnet)
1	152.000	$1,151 \cdot M^{0,19}$	$0,057 \cdot M^{0,40}$
2	152.000	$1,163 \cdot M^{0,19}$	$0,057 \cdot M^{0,40}$
3	152.000	$1,420 \cdot M^{0,16}$	$0,061 \cdot M^{0,39}$
4	152.000	$1,578 \cdot M^{0,15}$	$0,062 \cdot M^{0,38}$

Die Übereinstimmung der aus den viskosimetrischen Messungen ermittelten Daten ist insbesondere in Hinblick auf die sehr kleinen Staudinger-Indices  $[\eta]$  erstaunlich. Diese Daten stimmen auch sehr gut mit der Hydroxyethylstärke HES P + L 1025 überein. Bei der hochmolekularen Probe AS 4/8/00 mit einem Radius um 25 nm sind auch die aus den SEC/MALLS/RI-Messungen ermittelten Daten im Einklang mit denen der viskosimetrischen Messungen. Allen Systemen ist die Verzweigung gemeinsam, die sich durch die relativ kleinen Exponenten  $a$  und  $\nu$  ausdrückt.

Anhand dieser Proben, die alle einen ähnlichen Substitutionsgrad haben und aus derselben Ausgangswachsmasstärke synthetisiert wurden, wird ersichtlich, daß ein ausreichend großer Radius für die Bestimmung der  $R_G$ -M-Beziehung notwendig ist. So ließen sich eventuell bei ausreichend hochmolekularen Systemen mit entsprechend großen Radien und gleicher Substitution sowie gleichem Substitutionsmuster  $R_G$ -M-Beziehungen und  $[\eta]$ -M-Beziehungen aufstellen, die zwar aufgrund der eingeschränkten Gültigkeit der Theorie nicht die gleiche Aussagekraft hätten, wie die von linear aufgebauten Molekülen, aber doch eindeutige Trends aufwiesen.

Bei der Erstellung der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen wurde deutlich, daß es, um gültige, vergleichende Aussagen über die jeweiligen Systeme machen zu können, auf ähnliche Ausgangsmaterialien und substituierte Proben ankommt. Die Herkunft der Naturstoffe hat auf ihr Löslichkeitsverhalten entscheidenden Einfluß.

## 6 Fazit und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurden polymeranalytische Untersuchungen an verschiedenen wasserlöslichen Polysacchariden durchgeführt. Zur Ermittlung der absoluten Molmasse sowie deren Verteilung und des Trägheitsradius wurden gekoppelte Anlagen von Fraktioniereinheiten mit Vielwinkellichtstreuphotometer und Konzentrationsdetektor verwendet. Des Weiteren wurden viskosimetrische Messungen zur Ermittlung des Staudinger-Indices  $[\eta]$  sowie NMR-spektroskopische Charakterisierungen als zusätzliche Methoden herangezogen.

Untersuchung an verschiedenen Glucanen zeigten, daß insbesondere Gerstenglucane im Molmassenbereich von 220.000 g/mol zur Ausbildung von Überstrukturen neigen, da sich für diese Proben sehr kleine Werte für den Exponenten  $\nu$  der  $R_G$ -M-Beziehung ergeben. Diese Proben lassen sich dennoch ohne Komplikationen mittels SEC/MALLS/RI charakterisieren. Fraktionierungen über SEC-Säulen bei unterschiedlichen Säulentemperaturen zeigten zum einen, daß sich die Trennung dieser Substanzen bei höherer Säulentemperatur verbessert und spiegeln zum anderen die auch anhand von rheo-optischen Untersuchungen gefundene Thermoreversibilität der Aggregatbildung wieder. Die monomolekular dispers gelöste Probe des Gerstenglucans sowie das ebenfalls monomolekular dispers gelöst vorliegende carboxymethylierte  $\beta$ -D-Glucan ergeben reproduzierbare und gut übereinstimmende  $R_G$ -M- sowie  $[\eta]$ -M-Beziehungen.

Guarkernmehle befinden sich aufgrund ihrer chemischen Struktur in einem Grenzbereich zwischen linearen und verzweigten Molekülen. Diese Tatsache spiegelt sich auch in ihrer Lösungsstruktur sowie in den aus den SEC/MALLS/RI-Messungen ermittelten Struktureigenschafts-Beziehungen wieder; beide sind von der Molmasse abhängig. Die niedermolekulare Probe verhält sich wie ein verzweigtes Molekül, die hochmolekulare hingegen wie ein linear aufgebautes Molekül. Weitergehende Untersuchungen an homologen Molmassen dieser Substanz könnten den Bereich aufzeigen, an dem dieser Übergang stattfindet. Ein weitergehender Vergleich mit verzweigten Systemen wäre in Erwägung zu ziehen.

Der Abbau Amylopektin-reicher Wachsmaisstärke durch Ultraschalldegradation führt zu bimodalen Proben. Für den Erhalt monomodaler Proben hat sich der enzymatische Abbau mit  $\alpha$ -Amylase als geeigneter erwiesen. Die Bestimmungen der Brechungsindex-

inkremente ergaben eine leichte Abhängigkeit des Brechungsindexinkrementes von der Molmasse. Die hochmolekularen Proben mit gewichtsmittleren Molmassen größer 800.000 g/mol haben ein Brechungsindexinkrement ( $dn/dc$ ) von 0,140 ml/g, die niedermolekularen weisen einen konstanten Wert von 0,135 ml/g auf. Lagerstabilitätsuntersuchungen an diesen Proben zeigten, daß die Molmasse der gelösten Probe in etwa vergleichbar schnell mit der Lagerungsdauer abnahm. Nach 81 Tagen Lagerungszeit zeigten jedoch alle Proben einen Sprung in der Molmasse. Dieser Anstieg der Molmasse war bei den niedermolekularen Proben am stärksten ausgeprägt. Es wurden Molmassen über der Ausgangsmolmasse der Probe erhalten. Hier wären weitergehende Untersuchungen an homologen Proben interessant, um einen Grund für dieses Verhalten zu finden und den Einfluß der Molmasse hierauf genauer bestimmen zu können.

Untersuchungen der Molmasse an einer kommerziellen Hydroxyethylstärke-Probe zeigten den Unterschied zwischen den Fraktionierungsmethoden. Insbesondere der Einfluß des Querflusses auf dieses gut mittels SEC trennbaren Systems macht sich bei den sFFFF-Messungen deutlich. Auch wenn SEC- und den sFFFF-Messungen vergleichbare gewichtsmittlere Molmassen lieferten, zeigten sich Unterschiede besonders bei der zahlenmittleren Molmasse, die bei den sFFFF-Messungen höher ist, sowie infolgedessen der Polydispersität. Es ist des weiteren möglich, daß ein Teil der niedermolekularen Bestandteile durch die Membran ausgetragen worden ist.

Lagerstabilitätsuntersuchungen an kommerziell eingesetzten HES-Präparaten zeigten trotz vergleichbarer Molmasse abweichende Verhalten hinsichtlich der Stabilität der Molmasse. So zeigt sich die geringfügig kleinere Probe lagerstabil, die Probe mit einer Molmasse von 198.000 g/mol jedoch nicht. Eingehende Untersuchungen an verschiedenen Proben unterschiedlicher Molmasse und Molmassenverteilung könnten Aufschluß im Lagerverhalten beispielsweise im Vergleich zu Acetylstärke bringen.

Die CPF erwies sich als sehr geeignete Methode zur Abtrennung niedermolekularer Bestandteile der HES-Proben, die auch Substanzen mit geringerer Polydispersität ergeben. Eine einheitliche, allgemeingültige Struktur-Eigenschafts-Beziehung konnte jedoch nicht ermittelt werden. Zur Aufstellung von allgemeingültigeren Struktur-Eigenschafts-Beziehungen oder zum Erkennen der Zusammenhänge zwischen Molmasse, Trägheitsradius und Lösungsstruktur an verzeigten Systemen wären Untersuchungen an

homologen Reihen mit gleichem Verzweigungsgrad, Substitutionsgrad und -muster sinnvoll. Ein Problem dieser Proben bleibt dennoch weiterhin der kleine Radius auch bei recht hohen Molmassen, so daß wahrscheinlich auf absehbare Zeit die Aufstellung allgemeingültiger Struktur-Eigenschafts-Beziehungen nicht möglich sein wird, da die entsprechenden theoretischen Grundlagen fehlen.

Lagerstabilitätsuntersuchungen an überwiegend in Position 2 substituierten Acetylstärken zeigen eine Molmassen-abhängige Lagerstabilität. Hierbei erweisen sich die Proben mit Molmasse kleiner 280.000 g/mol als stabil. Je höher die Molmassen der Moleküle ist, desto schneller werden sie abgebaut. Viskosimetrische Messungen ergeben sehr kleine Staudinger-Indices, die im Laufe der Lagerungszeit geringfügig abnehmen. Aufgrund der sehr kleinen Werte lassen sich jedoch keine allgemeingültigen Aussagen treffen.

NMR-spektroskopische Untersuchungen zeigen keine Veränderung der chemischen Struktur. Gated  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektren zu Untersuchung der Substitutionsgrade zeigen bei der leicht höhermolekularen Probe AS 16/8/00 eine geringfügige Wanderung der Acetylgruppen von Position 2 in Position 3, bei AS 18/8/00 scheinen sich Acetylgruppen in Position C-3 abgespalten zu haben.

Aus Kartoffelstärke hergestellte niedrig substituiertere Hydroxypropylstärke ist nur schwer zu charakterisieren. Viskosimetrische Untersuchungen an diesen Systemen zeigten bei relativ kleinen Staudinger-Indices eine Abhängigkeit des Verhaltens von der jeweiligen Trocknungsmethode der Proben. Hierbei zeigten die Luft-getrockneten Proben das schlechteste Verhalten hinsichtlich der Reproduzierbarkeit, gefolgt von den Luft/Extruder getrockneten. Die über Walze getrockneten Proben zeigten das einheitlichste Verhalten dieser Proben. Bei der Größenausschlußchromatographie treten neben dem Größenausschluß auch Wechselwirkungen zwischen Probe und Säulenmaterial auf. Die sFFFF ergab aufgrund der geringen Menge an Substanz, die aufgegeben werden konnte, zu große Verdünnungseffekte, so daß reproduzierbare Messungen nicht möglich waren.

Die aFFFF erwies sich trotz einiger Probleme, die geeigneten Trennbedingungen einzustellen, als die erfolgsversprechendste Methode für diese Probensubstanzen. Trotz starker Streuungen der Signale ließen sich die Proben in guter Reproduzierbarkeit der Ergebnisse vermessen. Hierbei zeigte sich, daß die Proben alle einen Anteil mit relativ geringer Molmasse und einen hochmolekularen Bestandteil enthielten. Die gefundenen gewichtsmittleren Molmassen  $M_w$  lagen zwischen 700.000 bis 6,7 Mio. g/mol für den

ersten Peak bzw. 1,3 – 21 Mio. g/mol für den zweiten Peak. Die Messungen zeigten, daß die mittels Luft/Extruder getrockneten Proben insgesamt die kleinsten Molmassen aufweisen. Eine Unterscheidung zwischen Walze und Luft getrockneten Proben ist anhand des vorliegenden Probensatzes nicht zu erkennen.

Die polymeranalytische Charakterisierung von Polysacchariden ist oftmals sehr aufwendig, da sich gleiche Substanzgruppen in Abhängigkeit von Herkunft und Behandlung unterschiedlich verhalten. So müssen für die Bestimmung der absoluten Molmasse sowie deren Verteilung zunächst eine angebrachte Lösungsmethode sowie eine geeignete Fraktionierungsmethode inklusive der richtigen Bedingungen gefunden werden. Bei Proben, bei denen man die SEC einsetzen kann, ist dies als die geeignetste Methode anzusehen, da sie im Vergleich zur FFFF sehr viel einfacher zu handhaben ist. Dennoch sollte immer kritisch abgewogen werden, ob nicht eventuell doch Probenbestandteile abgetrennt oder gar degradiert wurden. Die FFFF stellt sich als Alternative zu der SEC dar, die komplexen Einflüsse von Kanalfluß, Querfluß, Membran und Spacerhöhe machen diese Methode jedoch sehr aufwendig.

Zusammenfassend konnten für alle untersuchten Polysaccharide erfolgreich die geeigneten Bedingungen zur Bestimmung der molekularen Parameter gefunden werden. Die erhaltenen Ergebnisse sind nicht nur von grundlegender Bedeutung, sondern auch aus anwendungsbezogener Sicht z.B. für die Auswahl und Herstellung von Blutplasmaersatzmitteln relevant. Des weiteren ermöglichten erst die hier vorgestellten Untersuchungen an Glucanen rheo-optische Messungen. Somit wurde für weiterführende Untersuchungen eine solide Grundlage gelegt.

## **7 Experimenteller Teil**

### **7.1 Trockengehaltsbestimmungen**

Zur Bestimmung des Trockengehalts wurden je ca. 0,1 g der entsprechenden Probensubstanz in ein weithalsiges Gläschen eingewogen und im Trockenschrank bei 110°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Vor dem Auswiegen wurden die Proben je eine Stunde zum Abkühlen in den Exsikkator gestellt.

### **7.2 Lösungsmittel**

#### **7.2.1 Lösungs- und Elutionsmittel**

Als Lösungsmittel wurde 0,1 M Natriumnitratlösung verwendet, der 200 ppm Natriumazid als Bakterizid zugesetzt waren. Für die Bereitung des Lösungsmittels wurde deionisiertes Wasser, welches zusätzlich über eine Aktivkohle- und zwei Ionenaustauschersäulen (Adsorber, Universal und Research, Novodirect, Kehl/Rh., Deutschland) gereinigt wurde, verwendet. Als Elektrolyt wurde Natriumnitrat (reinst) der Firma Merck (Merck eurolab GmbH, Darmstadt, Deutschland) zugegeben und als Bakterizid Natriumazid (reinst) ebenfalls der Firma Merck (Merck eurolab GmbH, Darmstadt, Deutschland) eingesetzt. Das Lösungsmittel wurde über einen Cellulosenitrat-Filter (Sartorius, Göttingen, Deutschland) der Porengröße 0,1 µm filtriert. Dieses Lösungsmittel wurde für die mit Lichtstredetektoren gekoppelten Fraktionierungsanlagen auch als Elutionsmittel verwendet.

#### **7.2.2 Deionisiertes Wasser für enzymatischen Abbau und Lagerstabilitätsuntersuchungen**

Das über eine Aktivkohle- und zwei Ionenaustauschersäulen (Adsorber, Universal und Research, Novodirect, Kehl/Rh., Deutschland) gereinigte deionisierte Wasser wurde über einen Cellulosenitrat-Filter (Sartorius, Göttingen, Deutschland) der Porengröße 0,1 µm filtriert. Anschließend wurde das Wasser unter Rückfluß gekocht.

### **7.2.3 Deionisiertes Wasser für Ultraschallabbau**

Das über eine Aktivkohle- und zwei Ionenaustauschersäulen (Adsorber, Universal und Research, Novodirect, Kehl/Rh., Deutschland) gereinigte deionisierte Wasser wurde über einen Cellulosenitrat-Filter (Sartorius, Göttingen, Deutschland) der Porengröße 0,1 µm filtriert.

## **7.3 Probenvorbereitung**

Die Proben wurden auf einer Chyo JL-200 Analysenwaage (Chyo, München, Deutschland) eingewogen und in dem entsprechenden Lösungsmittel gelöst. Zur Homogenisierung der Polymerlösungen wurden diese, sofern sie nicht bei erhöhten Temperaturen hergestellt werden mußten, auf einem Schütteltisch GFL-3005 (Gesellschaft für Labortechnik mbH, Deutschland) je nach Probe zwischen einem bis vier Tagen geschwenkt.

Für die Untersuchungen an dem Guarkernmehl der Firma Polyscience Inc. (Warrington, USA) wurde eine 2 %ige Lösung in bidestilliertem Wasser 2 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die Lösung wurde nach Abkühlen über einen 11 µm Filter der Firma Millipore (Millipore Incorp., Bedford, USA) filtriert und bis zur Gewichtskonstanz gefriergetrocknet. Der so erhaltene Feststoff ließ sich problemlos lösen.

### **7.3.1 Verdünnungsreihen für die Bestimmung des Brechungsindexinkrementes**

Zur Bestimmung des Brechungsindexinkrementes wurden von den Proben jeweils Stammlösungen in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid angesetzt. Nach vollständigem Lösen der Probe wurde aus den Stammlösungen Konzentrationsreihen im Bereich von  $8 \cdot 10^{-4}$  bis  $5 \cdot 10^{-3}$  g/ml angesetzt.

Für die Bestimmung des Brechungsindexinkrementes der Guarkernmehle wurden die Stammlösungen über einen Filter (Millipore Incorp., Bedford, USA) der Porengröße 60 µm gegeben und anschließend aus den filtrierten Lösungen die Konzentrationsreihen angesetzt.

### **7.3.2 Verdünnungsreihen für Viskositätsmessungen**

Für die Bestimmungen der Staudinger-Indices  $[\eta]$  wurden Stammlösungen mit einer Konzentration von  $1 \cdot 10^{-2}$  g/ml in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid angesetzt. Die Stammlösungen wurden über einen Filter der Porengröße 11  $\mu\text{m}$  der Firma Millipore (Millipore Incorp., Bedford, USA) gegeben. Anschließend wurden hieraus jeweils mindestens sechs Verdünnungen im Konzentrationsbereich von  $8 \cdot 10^{-4}$  bis  $9 \cdot 10^{-3}$  g/ml hergestellt.

### **7.3.3 Probenvorbereitung für SEC/MALLS/RI-Messungen**

Zur Bestimmung der Molmasse und deren Verteilung wurden Lösungen in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid hergestellt.

Die Gerstenglucan-Lösungen wurden bei 90°C im Trockenschrank unter gelegentlichem Schütteln innerhalb von 72 Stunden gelöst. Diese Proben wurden ohne weitere Vorbehandlung eingesetzt.

Die Lösung des carboxymethylierten 1,3- $\beta$ -D-Glucans SF 215 wurde vor dem Vermessen mittels der Biofuge pico (Heraeus Instruments, Osterode, Deutschland) 30 Minuten bei 12.000 U/min zentrifugiert. Die überstehende Lösung wurde abgenommen und vermessen.

Die Guarkernmehl-Lösungen wurden vor dem Vermessen mittels der Biofuge pico (Heraeus Instruments, Osterode, Deutschland) 30 Minuten bei 12.000 U/min zentrifugiert. Die überstehende Lösung wurde abgenommen und vermessen.

### **7.3.4 Probenvorbereitung für sFFFF/MALLS/RI-Messungen**

Zur Bestimmung der Molmasse und deren Verteilung wurden Lösungen in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid hergestellt.

### **7.3.5 Probenvorbereitung für aFFFF/MALLS/RI-Messungen**

Zur Bestimmung der Molmasse und deren Verteilung wurden Lösungen in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid hergestellt.

### **7.3.6 Probenvorbereitung für Lagerstabilitätsversuche**

Es wurden 6 %ige Lösungen in wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid und 6 %ige Lösungen in reinem abgekochtem bidestilliertem Wasser angesetzt. Die Lösungen wurden in Braunglasflaschen, welche zuvor bei 130°C im Trockenschrank für 24 Stunden erhitzt wurden, bei Raumtemperatur gelagert.

Die Lösungen wurden vor Vermessen mittels SEC/MALLS/RI mit wäßriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid auf ca. 1 % verdünnt.

### **7.4 Lösen im Autoklaven**

Das Lösen im Autoklaven erfolgte in einem Ölbad D 8 der Firma Haake (Haake, Berlin, Deutschland) bei einer Ölbadtemperatur von 130°C unter ständigem Rühren mit einem KPG-Rührer der Firma Heidolph RZK-2000 (Heidolph, Nürnberg, Deutschland). Nach einer Lösungsdauer von 30 Minuten wurde der Autoklav zum Abkühlen eine Stunde auf einem Schütteltisch geschwenkt. Die Proben wurden anschließend eine Stunde bei 13.000 U/min in der Zentrifuge Hermle Z-383 (Hermle Labortechnik, Wehingen, Deutschland) zentrifugiert.

### **7.5 Ultraschallabbau**

Die Ultraschalldegradation erfolgte mit einem Sonifer W-450 der Firma Branson Schallkraft GmbH (Heusenstamm, Deutschland) mit einem  $\frac{3}{4}$ -Zoll Titanresonator, der mit einer Frequenz von 20 kHz arbeitet. Für die Degradation wurden je 200 g einer 0,4 gew.% igen Probenlösung in ein 400 ml hochwandiges Becherglas eingewogen. Die Titanspitze wurde 1 cm tief in die Probelösung eingetaucht. Das Becherglas wurde in ein Ethanol-Kühlbad Haake K F 4 (Haake, Berlin, Deutschland) mit einer Temperatur von -20°C gestellt, der Abbau erfolgte bei der Temperatur der Probelösung von 20°C. Der Abbau wurde je Probe 0, 1, 5, 10, 15, 20 und 30 Minuten durchgeführt.

Der Titanantrieb wurde mit einer Zentrifuge des Typs Z-383 der Firma Hermle (Hermle Labortechnik, Wehingen, Deutschland) innerhalb von 30 Minuten bei 15.000 U/min abgetrennt. Anschließend wurde die Lösung eingefroren und an einer BETA 1-16 der Firma Christ (Osterode, Deutschland) gefriergetrocknet.

## 7.6 Enzymatischer Abbau

Der enzymatische Abbau der Stärke erfolgte durch eine  $\alpha$ -Amylase aus Schweinepankreas der Firma Fluka (München, Deutschland) mit einer nominellen Aktivität von 48,5 U/mg. Für den Abbau wurden Stärkelösungen in bidestilliertem Wasser, das zuvor über einen 0,1  $\mu\text{m}$  Cellulose-Filter (Sartorius, Göttingen, Deutschland) gegeben wurde, angesetzt. Die Lösungen wurden unter Rückfluß für eine Stunde erhitzt und über Nacht gerührt. Am nächsten Tag wurden zu der Suspension 0,5 g (2 - 3 mmol) Calciumchlorid zugegeben und anschließend 4 – 6 mg (nominell 194 – 291U = 114 - 171 U/l)  $\alpha$ -Amylase.

Für Abbaureihen aus dem enzymatischen Abbau wurden in bestimmten Zeitintervallen je 10 ml des Reaktionsgemisches entnommen. Die Zeitintervalle betragen für die erste Abbaureihe 0, 5, 10, 30, 60, 120 und 300 Minuten, für die zweite 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 und 240 Minuten und für die dritte 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150 und 180 Minuten. Zum Abbruch der Reaktion wurde das Reaktionsgemisch der ersten beiden Abbaureihen auf je 1 ml einer 2 gew.% igen ( $c = 2,284 \cdot 10^{-3}$  g/mol) Natriumazid-Lösung gegeben und für 5 Minuten auf 100°C erhitzt. Für die dritte Abbaureihe wurde das Reaktionsgemisch mit Salzsäure auf einen pH-Wert von ca. 3 gebracht und anschließend mit Natronlauge neutralisiert. Der pH-Wert wurde mittels des pH-Meters des Typs pH 552 der Firma Wissenschaftliche Technische Werkstätten (WTW, Weilheim in Oberbayern, Deutschland) überprüft. Die Reaktionsbedingungen des enzymatischen Abbaus sind in **Tabelle 7.6-1** dargestellt.

*Tabelle 7.6-1 Reaktionsbedingungen der enzymatischen Abbaureihen der WMS. Angegeben sind die Konzentration der Stärkelösung, die zugegebenen Menge an  $\text{CaCl}_2$  in mmol und  $\alpha$ -Amylase sowie deren nominellen Wirksamkeit U gesamt und pro Liter Reaktionslösung.*

Abbaureihe	$c_{\text{WMS}}$ (g/ml)	$c_{\text{CaCl}_2}$ (mmol/l)	$m_{\alpha\text{-Amylase}}$ (g)	$U_{\alpha\text{-Amylase}}$ ges.	$U_{\alpha\text{-Amylase}}$ (U/l)
1	$4,0 \cdot 10^{-2}$	2,7	0,0046	223,1	131,2
2	$4,0 \cdot 10^{-2}$	2,7	0,0040	194,0	114,1
3	$3,6 \cdot 10^{-2}$	2,6	0,0046	223,1	131,2

Die Proben wurden am Ende jeder Abbaureihe zur Reinigung über Filter (Millipore Incorp., Bedford, USA) der Porengröße 11  $\mu\text{m}$  gegeben und die Lösungen wurden gegen

bidestilliertes Wasser dialysiert. Nach Erreichen geringer Leitfähigkeitswerte, welche mittels des Leitfähigkeitsmeßgerätes LF 521 der Firma Wissenschaftliche Technische Werkstätten (WTW, Weilheim in Oberbayern, Deutschland) überprüft wurden, wurden sie eingefroren und gefriergetrocknet.

Für die gezielten Abbauten auf eine bestimmte Molmasse wurde der gesamte Reaktionsansatz von je 1,71 mit den Konzentrationen an Wachsmaisstärke, dem Calciumchloridzusatz und der  $\alpha$ -Amylase nach **Tabelle 7.6-2** nach einer definierten Zeit mit Salzsäure auf einen pH-Wert von etwa 3 eingestellt und anschließend neutralisiert. Der pH-Wert wurde mittels des pH-Meters des Typs pH 552 der Firma Wissenschaftliche Technische Werkstätten (WTW, Weilheim in Oberbayern, Deutschland) überprüft. Die Proben wurden ebenfalls am Ende jeder Abbaureihe zur Reinigung über Filter (Millipore Incorp., Bedford, USA) der Porengröße 11  $\mu\text{m}$  gegeben und die Lösungen gegen bidestilliertes Wasser dialysiert. Nach Erreichen geringer Leitfähigkeitswerte, welche mittels des Leitfähigkeitsmeßgerätes LF 521 der Firma Wissenschaftliche Technische Werkstätten (WTW, Weilheim in Oberbayern, Deutschland) überprüft wurden, wurden sie eingefroren und gefriergetrocknet.

*Tabelle 7.6-2 Reaktionsbedingungen der gezielten enzymatischen Abbauten der WMS. Angegeben sind die Konzentration der Stärkelösung, die zugegebenen Menge an  $\text{CaCl}_2$  in mmol und  $\alpha$ -Amylase sowie deren nominellen Wirksamkeit  $U$  gesamt und pro Liter Reaktionslösung, die Abbaudauer und der zum Abbruch eingestellte pH-Wert.*

Abbau	$c_{\text{WMS}}$ (g/ml)	$c_{\text{CaCl}_2}$ (mmol/l)	$m_{\alpha\text{-Amylase}}$ (g)	$U_{\alpha\text{-Amylase}}$ $U_{\text{ges}}$	$U_{\alpha\text{-Amylase}}$ (U/l)	Abbaudauer (min)	pH-Wert
24/7/00	$3,5 \cdot 10^{-2}$	2,6	0,0059	286,2	168,3	90	$\text{NaN}_3$ , 100°C
1/8/00	$3,5 \cdot 10^{-2}$	2,6	0,0046	223,4	131,4	90	2,7
2/8/00	$3,5 \cdot 10^{-2}$	2,4	0,0046	224,8	132,2	90	2,9
4/8/00	$3,5 \cdot 10^{-2}$	2,7	0,0046	221,7	130,4	100	2,3
8/8/00	$3,5 \cdot 10^{-2}$	2,7	0,0045	219,9	129,3	120	2,1
10/8/00	$3,5 \cdot 10^{-2}$	2,7	0,0046	223,3	131,3	110	2,1
16/8/00	$3,5 \cdot 10^{-2}$	2,6	0,0048	232,8	136,9	100	2,1
18/8/00	$3,5 \cdot 10^{-2}$	2,7	0,0047	227,5	133,8	115	1,7

## 7.7 Viskosimetrie

Die viskosimetrischen Untersuchungen wurden mit einem Ubbelohde-Kapillarviskosimeter des Typs Ic der Firma Schott (Hofheim a. Ts., Deutschland) in einem Scherbereich von  $500 - 1500 \text{ s}^{-1}$  bei einer Temperatur von  $25^\circ\text{C}$  durchgeführt. Die Durchlaufzeiten wurden mittels einer Lichtschranke und dem Viscoboy der Firma Lauda (Lauda, Königshofen, Deutschland) gemessen.

## 7.8 Brechungsindexinkrement

Das Brechungsindexinkrement wurde durch Vermessen von Konzentrationsreihen mit Hilfe des Interferometers Optilab der Firma Wyatt (Wyatt Technology Corp., Santa Barbara, USA) mit einer P2L-Zelle im sogenannten Treppenzugverfahren bestimmt. Die Datenaufnahme und -auswertung erfolgte mit dem Programm dndc 5.00 (Wyatt Technology Corp., Santa Barbara, USA). Die einzelnen Konzentrationen einer Verdünnungsreihe wurden mit einer Spritzenpumpe des Typs A-99 der Firma Bioblock Scientific (Illkirch Cedex, Frankreich) mit einem Einmalfilter Anotop 10 (Whatmann, Maidstone, Großbritannien) der Porengröße  $0,2 \mu\text{m}$  injiziert.

## 7.9 Lichtstreuung

Die Aufnahme von Zimm-Diagrammen erfolgte über Konzentrationsreihen der Probenlösungen mit dem Vielwinkellichtstreuphotometer des Typs DAWN DSP der Firma Wyatt (Wyatt Technology Corp., Santa Barbara, USA) bei einer Wellenlänge von  $633 \text{ nm}$ . Die Datenaufnahme erfolgte mit dem Programm ASTRA 4.7.2 und die Auswertung mit der Version 4.73.04 (beide Wyatt Technology Corp., Santa Barbara, USA).

## 7.10 SEC/MALLS/RI-Anlage

Das Elutionsmittel (wäßrige  $0,1 \text{ M}$  Natriumnitratlösung mit  $200 \text{ ppm}$  Natriumazid) wurde mittels einer HPLC-Pumpe Gynkotheke 300C (Gynkotheke, Germering, Deutschland) mit einem Fluß von  $0,513 \text{ ml/min}$  gefördert. Unmittelbar vor der Pumpe wurde es mittels des Degasers ERC 3315a der Firma ERC (ERC Inc., Alteglofsheim, Deutschland) entgast und nach der Pumpe über einen Anotop-Filter der Probengröße  $0,02 \mu\text{m}$  der Firma Whatman (Whatman International Ltd., Maidstone, Großbritannien) filtriert. Zur Pulsations-

dämpfung wurde ein Pulsationsdämpfer der Firma Techlab (Erkerode, Deutschland) verwendet. Die Proben wurden über den automatischen Probengeber HP Series 1100 (Hewlett Packard, Waldbronn, Deutschland) injiziert. Direkt vor den Säulen befand sich ein Polycarbonatfilter mit der Porengröße 0,8  $\mu\text{m}$  der Firma Nucleopore (Corning Costar, Bodenheim, Deutschland). Die Temperierung der Säulen erfolgte mittels eines Säulenofens HPLC 21 (Techlab GmbH, Ekerode, Deutschland).

### 7.10.1 SEC-Säulen

Die Fraktionierung der Polymerproben erfolgte über einen Satz bestehend aus vier Säulen der Firma TosoHaas (Stuttgart, Deutschland). Hierbei handelte es sich um die Säulen der Bezeichnung TSK-Gel PW<sub>XL</sub>. Die Säulen waren in Reihenfolge abnehmender Partikelgröße angeordnet. Das Säulenfüllmaterial besteht hierbei aus einem auf Polymethacrylat-basierenden Polymer. Die Säulen haben einen Innendurchmesser von 7,8 mm und eine Länge von je 300 mm. Vor den Säulensatz war eine Vorsäule des gleichen Säulenfüllmaterials mit Partikeln der Größe von 12  $\mu\text{m}$  geschaltet. In **Tabelle 7.10-1** sind die wichtigsten technischen Daten gemäß Hersteller angegeben.

*Tabelle 7.10-1 Spezifikationen der TSK-Gel Säulen (Herstellerangaben)*

Säule	Porengröße (nm)	Partikelgröße ( $\mu\text{m}$ )	Bodenzahl <sup>a)</sup> pro Säule	Ausschlußgrenze <sup>b)</sup> (g/mol)
Guardcolumn		12		
G6000 PW <sub>XL</sub>	> 100	13	10.310	$\sim 2 \cdot 10^7$
G5000 PW <sub>XL</sub>	100	10	15.610	$1 \cdot 10^6$
G4000 PW <sub>XL</sub>	50	10	14.820	$4 \cdot 10^5$
G3000 PW <sub>XL</sub>	20	6	22.500	$8 \cdot 10^4$

<sup>a)</sup> Meßbedingungen für die Bestimmung der Bodenzahl: Eluent: Wasser, Flußrate: 1 ml/min, Probe: Ehtylenglycol, Injektionsvolumen: 20  $\mu\text{l}$ , Temperatur: 298 K, Detektor: DRI

<sup>b)</sup> bezogen auf PEO

### 7.10.2 Detektion

Die Streulichtmessungen wurden mit einem Vielwinkellichtstreuophotometer des Typs DAWN-F der Firma Wyatt (Wyatt Technology Corp., Santa Barbara, USA) durchgeführt. Als Lichtquelle diente hierbei ein He-Ne-Laser der Wellenlänge  $\lambda_0 = 632,8 \text{ nm}$ . Die

Messung erfolgte in einer Durchflußzelle aus hochbrechendem Glas (K5,  $n_g = 1,52064$ ). Das Streulicht wurde gleichzeitig von fünfzehn Photodioden in einem Winkelbereich von  $25,56^\circ$  bis  $114,46^\circ$  aufgenommen.

Die Geräteparameter wurden durch Kalibrierung des  $90^\circ$ -Winkels mit reinem Toluol und durch anschließende Normalisierung der übrigen Photodioden mit engverteilten Dextran-Standards mit einem Teilchendurchmesser von  $< 10$  nm (isotrope Streuer) bestimmt.

Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mit einem Differentialrefraktometer des Typs Shodex SI SE-71 (Showa Denko, Tokyo, Japan). Die Kalibrierung wurde mit Konzentrationsreihen von Natriumchlorid durchgeführt.

Die Aufzeichnung der Meßdaten erfolgte mit einem PC mit dem Programm ASTRA 2.11b und die Auswertung mit der Version ASTRA for Windows 4.73.04 (beide Wyatt Technology Corp., Santa Barbara, USA).

### **7.11 sFFFF/MALLS/RI-Anlage**

Der Kanalfuß wurde mit einer HPLC-Pumpe HP-1050 Series (Hewlett Packard, Waldbronn, Deutschland), der Querfluß mit einer Doppelkolbenpumpe des Typs P-500 (Pharmacia, Freiburg, Deutschland) gefördert. Das Elutionsmittel wurde unmittelbar vor den Pumpen mit Hilfe des Degasers ERC 3315a (ERC, Alteglofsheim, Deutschland) entgast und über einen Anodisc-Filter der Porengröße  $0,02 \mu\text{m}$  (Whatmann International Ltd., Maidstone, Großbritannien) filtriert. Als Pulsationsdämpfer wurde einer der Firma Techlab (Techlab, Erkerode, Deutschland) eingesetzt. Die Probenaufgabe erfolgte über einen automatischen Probengeber HP Series 1100 (Hewlett Packard, Waldbronn, Deutschland). Die Steuerung der Ventile und der Querflußpumpe erfolgte über einen AD-Wandler (Graf Electronics, München, Deutschland). Bei allen Messungen wurde mit einem Kanalfuß von  $0,47$  ml/min gearbeitet. Der Querfluß wurde in Abhängigkeit der Probe und die damit an die Trennung gestellten Anforderungen variiert. Die Messungen erfolgten bei Raumtemperatur.

#### **7.11.1 Der sFFFF-Kanal**

Die Fraktionierung erfolgte in einem Kanal des Typs universal fractionation model F-1000 (FFFractionation Inc., Salt Lake City, USA). Der verwendete Abstandshalter (Spacer)

hatte eine Dicke von 250  $\mu\text{m}$ , der darin ausgeschnittene Kanal eine Länge von 28,5 cm und eine Breite von 2,0 cm, das nominelle Kanalvolumen ergibt sich zu 1,4 ml. Als Membran wurde regenerierte Cellulose des Typs YM-10 (Amicon, Millipore Incorp., Bedford, USA) mit einer Ausschlußgrenze von 10.000 Da bezogen auf Dextran verwendet.

### 7.11.2 Detektion

Die Detektion erfolgte mit denselben Anlagen und Programmen wie im Falle der SEC/MALLS/RI-Messungen (s. 7.10.2).

## 7.12 aFFFF/MALLS/RI-Anlage

Das Elutionsmittel wurde mit einer HPLC Pumpe des Typs ConstaMetric 3200 (TSP, Egelsbach, Deutschland) gefördert. Unmittelbar vor der Pumpe war ein Degaser des Typs Knauer (Knauer, Berlin, Deutschland) geschaltet, nach der Pumpe befanden sich zwei Filter – ein Anodis-Filter der Porengröße 0,02  $\mu\text{m}$  und eine Einmalfilter Anopore ebenfalls der Porengröße 0,02  $\mu\text{m}$  (beide Whatmann International Ltd., Maidstone, Großbritannien) – im System. Es wurde ein Pulsationsdämpfer (Techlab, Erkerode, Deutschland) verwendet. Mit Hilfe eines Injektionsventils mit Injektionsschleife bekannten Volumens wurde die Probenlösung injiziert. Die Messungen erfolgten bei Raumtemperatur.

Die Steuerung der Flußpumpe und der Ventile erfolgte mit dem Programm AFFF\_e und der zugehörigen Software (ConSensus, Ober-Hilbersheim, Deutschland).

### 7.12.1 aFFFF-Kanal

Die Fraktionierung erfolgte in einem Kanal der Firma ConSensus (ConSensus, Ober-Hilbersheim, Deutschland). Hierbei handelt es sich um einen Edelstahlkanal mit Plexiglasdeckel. Es wurde ein Abstandshalter (Spacer) der Dicke 190  $\mu\text{m}$  eingesetzt. Der darin ausgeschnittenen, trapezoiden Kanal hatte die Abmessungen der Länge  $L = 28,6$  cm, der Breite  $b_0 = 2,12$  cm am Kanaleinlaß und  $b_L = 0,47$  cm am Kanalauslaß. Die Länge der zugeschnittenen Enden am Kanaleinlaß  $z'$  betrug 2,04 cm und am Kanalauslaß 0,54 cm. Daraus ergibt sich eine Fläche  $A$  von 36,33  $\text{cm}^2$  an der Anreicherungswand und eine ausgeschnittene Fläche am Kanaleinlaß  $y$  von 2,25  $\text{cm}^2$ . Als Membran wurde eine

regenerierte Cellulose des Typs YM-10 (Amicon, Millipore Incorp., Bedford, USA) verwendet.

### 7.12.2 Detektion

Die Streulichtmessungen wurden mit einem Lichtstreuphotometer des Typs DAWN DSP-F (Wyatt Technology Corp., Santa Barbara, USA) mit einem He-Ne-Laser der Wellenlänge  $\lambda_0 = 632,8$  nm aufgenommen. Das Streulicht wird simultan von 18 Photodioden, die stationär um die Meßzelle angeordnet sind, im Winkelbereich von  $26,56^\circ$  bis  $144,46^\circ$  gemessen. Die Messung erfolgte in einer Durchflußzelle aus hochbrechendem Glas (K5,  $n_g = 1,52064$ ). Alle Messungen wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

Die Geräteparameter wurden durch Kalibrierung des  $90^\circ$ -Winkels mit reinem Toluol und durch anschließende Normalisierung der übrigen Photodioden mit engverteilten Dextran-Standards (isotrope Streuer) erhalten.

Die Bestimmung der Konzentration erfolgte mit einem vor das Streulichtphotometer geschalteten Interferometer des Typs Optilab DSP (Wyatt Technology Corp., Santa Barbara, USA). Die Kalibrierung des Gerätes erfolgte mit Konzentrationsreihen von Natriumchloridlösungen.

Die Aufnahme der Daten erfolgte mit dem Programm ASTRA 4.7.2 und die Auswertung mit der Version 4.73.04 (beide Wyatt Technology Corp., Santa Barbara, USA).

### 7.13 NMR-Spektroskopie

Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden auf einem Bruker Avance 4000 (Bruker, Rheinstetten, Deutschland) aufgenommen. Zur Aufnahme der Hochauflösungsspektren wurde ein 10 mm SEX- $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ -Dual-Probenkopf mit einem  $^2\text{H}$ -Lock benutzt. Die IGATED-Spektren wurden bei einer Frequenz von 100 MHz und einer Entkopplerfrequenz von 400 MHz aufgenommen. Das Relaxationsdelay betrug 10 s und die Pulslänge 9  $\mu\text{s}$ . Als Referenz der chemischen Verschiebung diente Trimethylsilylpropionsäure- $\text{d}_4$ -Natriumsalz (TSP,  $\delta = -2,78$  ppm). Die Auswertung erfolgte mit der Software WIN-NMR der Firma Bruker Frantzen Analytik, (Bremen, Deutschland).

## 7.14 Dialyse

Die Proben der enzymatisch abgebauten Wachsmaisstärke wurden zunächst über 11  $\mu\text{m}$  (Millipore Incorp., Bedford, USA) filtriert, anschließend gegen bidestilliertes Wasser mit Dialyseschläuchen des Typs Spectra mit einem cut-off von 12.000 g/mol der Firma Serva (Serva Feinbiochemica, Heidelberg, Deutschland) dialysiert. Das Wasser wurde mehrmals ausgetauscht bis ein Leitfähigkeitswert von  $< 4 \mu\text{S}$  erreicht wurde.

## 8 Anhang

### 8.1 Abkürzungen

$A$	Fläche
$a$	empirischen Konstante bei Bestimmung von $A_2$
$a$	Exponent der $[\eta]$ - $M$ -Beziehung
$A$	Kanalfläche
$A(z)$	Fläche der Akkumulationswand beim aFFFF-Kanal
$aFFFF$	asymmetrische Fluß Feld-Fluß Fraktionierung
$A_i$	$i$ -ter Virialkoeffizient
$AS$	Acetylstärke
$b$	empirischen Konstante bei Bestimmung von $A_2$
$b(z)$	Kanalbreite beim aFFFF-Kanal
$BP$	Betriebspunkt
$c$	Konzentration
$c^*$	kritische Konzentration
$c_{LS}^*$	kritische Konzentration aus Lichtstreuung
$c_{[\eta]}^*$	kritische Konzentration aus Viskosimetrie
$c(x)$	Konzentration an einer bestimmten Stelle
$c_0$	Konzentration an der Akkumulationswand
$CPF$	kontinuierliche Polymerfraktionierung (continuous polymer fractionation)
$d$	Durchmesser
$D$	Diffusionskoeffizient
$(dc/dx)$	Konzentrationsgefälle
$(dn/dc)$	Brechungsindexinkrement
$DNA$	Desoxyribonucleinsäure (desoxy rebonuclein acid)
$DS$	durchschnittlicher Substitutionsgrad
$D_T$	thermischer Diffusionskoeffizient
$E$	elektrisches Feld
$EA$	Extraktionsagens
$eFFFF$	elektrische Feld-Fluß Fraktionierung (electrical field-flow fractionation)
$FD$	Feed

<i>FFF</i>	Feld-Fluß Fraktionierung (field-flow fractionation)
<i>FFFF</i>	Fluß Feld-Fluß Fraktionierung (flow field flow fractionation)
<i>FM</i>	Fällungsmittel
<i>h</i>	Fadenendabstand
<i>h(x)</i>	Wahrscheinlichkeit
<i>HES</i>	Hydroxyethylstärke
<i>HPLC</i>	Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (high performance liquid chromatography)
<i>HPS</i>	Hydroxypropylstärke
<i>I</i>	Intensität
<i>I<sub>0</sub></i>	Primärstrahlintensität
<i>I<sub>θ</sub></i>	Streuintensität unter Winkel θ
<i>I<sub>θ, LM</sub></i>	Streuintensität des reinen Lösungsmittels
<i>I<sub>θ, Lsg</sub></i>	Streuintensität der gesamten Lösung
<i>k</i>	Boltzmann-Konstante
<i>k</i>	Spreizfaktor (Zimm-Diagramm)
<i>K</i>	optische Konstante (Streulichtkonstante)
<i>k<sub>H</sub></i>	Huggins-Konstante
<i>k<sub>RG</sub></i>	Koeffizient der R <sub>G</sub> -M-Beziehung
<i>K<sub>SEC</sub></i>	Verteilungskoeffizient
<i>k<sub>η</sub></i>	Koeffizient der [η]-M-Beziehung
<i>l</i>	Schichtlage
<i>L</i>	Kanallänge
<i>LM</i>	Lösungsmittel
<i>LS</i>	Lichtstreuung
<i>Lsg.</i>	Lösungsmittel
<i>m</i>	Masse
<i>M</i>	Molmasse
<i>MALLS</i>	Vielwinkel-Laser-Lichtstreuung (Multi Angle Laser Light Scattering)
<i>M<sub>n</sub></i>	zahlenmittlere Molmasse
<i>MS</i>	molarer Substitutionsgrad
<i>M<sub>w</sub></i>	gewichtsmittlere Molmasse
<i>M<sub>w</sub>/M<sub>n</sub></i>	Polydispersität

$M_z$	z-statistische Molmasse
$M_\beta$	Molmassenmittelwert
$M_\eta$	Viskositätsmittel
$n$	Brechungsindex
$n$	Teilchenzahl
$N$	Teilchenanzahl
$n_0$	Brechungsindex des reinen Lösungsmittels
$N_A$	Avogadro-Konstante
$n_i$	Häufigkeit
$N_L$	Loschmidt-Konstante
<i>NMR</i>	Kernresonanz (Nuclear Magnetic Resonanz)
$p$	Druck
$p$	Dipolmoment
<i>ppm</i>	part per million
$P_g$	Streuungsfunktion
$q$	Streuvektor
$r$	Detektorabstand
$r$	geometrischer Radius
$R$	Retentionsverhältnis
<i>RES</i>	reticulo-endotheliales System
$R_G$	Trägheitsradius
$R_H$	hydrodynamischer Radius
$R_{HD}$	hydrodynamischer Radius aus Querflußfraktionierung
$R_{H\eta}$	hydrodynamischer Radius aus Viskosimetrie
$r_i$	Abstand zum Masseschwerpunkt
<i>RI</i>	Refraktometrie (Refractive Index)
$r_{ij}$	Abstand zweier Streuzentren
$R_{0^\circ}$	Streuintensität unter Winkel $0^\circ$
$R_g$	reduzierte Streulichtintensität, Exzeß-Rayleigh-Verhältnis
<i>SEC</i>	Größenausschlußchromatographie (Size Exclusion Chromatography)
<i>SFFF</i>	Sedimentations Feld-Fluß Fraktionierung (Sedimentation Field-Flow Fractionation)
<i>sFFFF</i>	symmetrische Fluß Feld-Fluß Fraktionierung
$t$	Zeit

$T$	Temperatur
$t_0$	Totzeit
$t_e$	Zeit am Ende der Messung
$ThFFF$	Thermische Feld-Fluß Fraktionierung (Thermal Field-Flow Fractionation)
$t_R$	Retentionszeit
$t_s$	Startzeit
$u_0$	Geschwindigkeit an der Akkumulationswand
$u_x$	Driftgeschwindigkeit
$V$	Volumen
$v$	Strömungsgeschwindigkeit
$\bar{v}$	mittlere Geschwindigkeit der Probenkomponente
$v(x)$	Geschwindigkeit einer laminaren Schicht
$V_0$	Totvolumen
$V_0$	Zwischenvolumen
$V_e$	Elutionsvolumen
$\dot{V}_{in}$	Flußrate am Kanaleinlaß
$V_{inj}$	Injektionsvolumen
$\dot{V}_{out}$	Flußrate am Kanalauslaß
$V_P$	Porenvolumen
$V_R$	Retentionsvolumen
$V_S$	Streuolumen
$\dot{V}_x$	Querfluß
$\langle v(x) \rangle$	mittlere Geschwindigkeit des Lösungsmittels
$\dot{V}_z$	Kanalfluß
$W$	Gesamtmasse der Probe
$w$	Kanalhöhe
$W(M)$	kumulative (integrale) Molmassenverteilung
$w(M)$	differentielle Molmassenverteilung
$w_i$	Massenanteil
$WMS$	Wachsmasstärke
$WR$	Wiederfindungsrate
$x$	Abstand von der Akkumulationswand

$x_i$	partieller Substitutionsgrad an der Position i
$y$	verminderte Fläche des aFFFF-Kanals
$z'$	Fokussierungspunkt des aFFFF-Kanals
$\langle \Delta x^2 \rangle$	Quadrat der zurückgelegten Wegstrecke
$\Delta p$	Dichteunterschied
$\Phi$	Verhältnis des Volumens von Makromolekülen zum Gesamtvolumen der Lösung
$\Phi_0$	Fox-Flory-Konstante
$\vartheta$	Streuwinkel
$\alpha$	Polarisierbarkeit
$\alpha$	axiale Stellung am C-1 Atom der Anhydroglucoseeinheit
$\beta$	equatoriale Stellung am C-1 Atom der Anhydroglucoseeinheit
$\varepsilon$	Dielektrizitätskonstante
$\varepsilon$	Aufweitungparameter
$\dot{\gamma}$	Schergeschwindigkeit
$\eta$	Viskosität
$\eta_{LM}$	Viskosität des reinen Lösungsmittels
$\eta_{Lsg}$	Viskosität der Polymerlösung
$\eta_{rel}$	relative Viskosität
$\eta_{spez}$	spezifischen Viskosität
$[\eta]$	Staudinger-Index
$\lambda$	Wellenlänge
$\lambda$	Retentionsparameter
$\lambda_0$	Wellenlänge im Vakuum
$\mu$	elektrische Mobilität
$\mu$	wahrere Wert
$\nu$	Exponent der R <sub>G</sub> -M-Beziehung
$\rho$	Dichte
$\rho_{äqu}$	Dichte des leeren Polymerknäuels ohne Lösungsmittel
$\sigma$	Schwankung der Einzelmessung

## 8.2 Fehlerbetrachtungen

Als Fehler bezeichnet man die Differenz zwischen Ist- und Sollwert. Keine Messung ist absolut fehlerfrei. Sie kann prinzipiell nicht genauer als ihre Reproduzierbarkeit sein. Hinzu kommen noch Ungenauigkeiten beim eigentlichen Meßprozeß<sup>1</sup>.

Es ist üblich, in der Fehlerbetrachtung zwischen systematischen, zufälligen oder statistischen und groben Fehlern zu unterscheiden. Liegt bei der Messung ein Fehler vor, kann man am Meßwert allein nicht den Grund des Fehlers erkennen<sup>2,3,4</sup>.

Systematische Fehler werden durch die Unvollkommenheit der Meßgeräte, Meßverfahren oder des Meßgegenstandes verursacht. Sie bewirken ein systematisches Abweichen des Meßwertes in eine Richtung vom wahren Wert und können auch durch Wiederholungen der Messung nicht verkleinert werden. Systematische Fehler können auch durch Umgebungsparameter oder durch persönliche Einflüsse des Experimentators hervorgerufen werden. Systematische Fehler sind meist schwierig zu erkennen und häufig kaum quantitativ zu erfassen.

Zufällige oder statistische Fehler schwanken ungleich in Betrag und Vorzeichen. Sie sind im einzelnen nicht erfaßbar und führen zur Streuung der Ergebnisse. Sie werden durch nicht beeinflussbare Änderungen etwa der Meßgeräte, der Umgebungseinflüsse oder des Experimentators selbst hervorgerufen und lassen sich nicht vermeiden. Zufällige Fehler können durch Rechenverfahren abgeschätzt werden und lassen sich mit größerer Anzahl an Messungen verringern.

Grobe Fehler sind im eigentlichen Sinne keine Meßfehler. Sie entstehen durch vermeidbare Ursachen wie etwa Unachtsamkeit des Experimentators oder defekte Meßgeräte. Sie sind durch Sorgfalt zu vermindern bzw. zu vermeiden.

Weiterhin wird noch zwischen dem absoluten Fehler, der die Abweichung vom wahren Wert angibt, und dem relativen Fehler, welcher das Verhältnis des absoluten Fehlers zum Meßwert beschreibt, unterschieden.

---

<sup>1</sup> Geschke, D., „*Physikalisches Praktikum für Anfänger*“, Teubner-Verlag Leipzig, **1998**.

<sup>2</sup> Schlichting, H., Ucke, C., „*Hinweise zur Beurteilung von Messungen, Messergebnissen und Messabweichungen (ABW) Fehlerbetrachtung*“, Oktober **2001**.

<sup>3</sup> Ilberg, W., „*Physikalisches Praktikum*“, 10. Aufl., B. G. Teubner Verlagsgesellschaft Stuttgart, Leipzig, **1994**.

<sup>4</sup> DIN 1319, „*Grundbegriffe der Meßtechnik, Teil 3: Begriffe für die Meßunsicherheit und für die Beurteilung von Meßgeräten und Meßeinrichtungen*“.

Systematische Fehler kann man durch eine gute meßtechnische Erfahrung und die genaue Kenntnis des Meßgerätes und der Meßbedingungen abschätzen. Jedes Meßgerät wird z.B. vom Hersteller hinsichtlich seiner Genauigkeit klassifiziert.

Zufällige Fehler lassen sich mit Hilfe der Statistik abschätzen. Sind die Einzelmessungen voneinander unabhängig, kann man mit Hilfe der Gauß'schen Häufigkeitsverteilung (auch als Normalverteilung bezeichnet) die Wahrscheinlichkeit  $h(x)$ , einen Meßwert innerhalb eines bestimmten Intervalls von  $x$  bis  $x + dx$  zu messen, nach **Gleichung 8.2-1** berechnen.  $\mu$  beschreibt hierbei den wahren Wert und  $\sigma$  die Schwankung der Einzelmessung.

$$h(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right) \quad \text{Gleichung 8.2-1}$$

Wenn die Meßwerte bei unendlich vielen Messungen nach diesem Gesetz symmetrisch um den wahren Wert schwanken, können Näherungswerte mit Hilfe einer Stichprobe gewonnen werden.

Bei der Bestimmung der Molmassen und Teilchengrößen mit Hilfe der Lichtstreuung lassen sich die auftretenden Fehler anhand der allgemeinen Streulichtgleichung beschreiben. In diese Gleichung geht zum einen die Konzentration der Polymerlösung ein. Hier können Fehler beim Ansetzen des Lösungen wie etwa Wägefehler oder Fehler durch falsche Berücksichtigung des Trockengehaltes der Probe eingehen. Des weiteren geht in die Streulichtgleichung das Brechungsindexinkrement ein. Dieses wird durch äußere Einflüsse wie etwa der Temperatur, des Druckes und der verwendeten Wellenlänge maßgeblich beeinflusst, so daß bei seiner Bestimmung auf gleichbleibende Meßbedingungen zu achten ist. Ein Fehler bei der Bestimmung des Brechungsindexinkrementes von etwa 10 % ist als realistisch anzusehen.

Der absolute Fehler bei der Messung der relativen Streulichtintensität hängt von der Genauigkeit der Eichung des Lichtstreuophotometers ab und ist wegen der Unsicherheit der zugrundeliegenden Absolutstreuung von Toluol nicht genau bekannt<sup>5</sup>.

Die Schwankungen des Streulichtsignals führen ebenfalls zu Meßunsicherheiten. Im allgemeinen kann man hierbei von einem Fehlerwert bis zu 10 % ausgehen<sup>6</sup>.

<sup>5</sup> Hoffmann, M., „Polymeranalytik“, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1977, 225.

<sup>6</sup> Dumelow, T., Holding, S. R., Maisey, L. J., „Low-angle laser light scattering for determination of molecular weights – an interlaboratory comparison“, Polym. Commun. 24, 1983, 307.

### 8.3 Sicherheitshinweise

#### Calciumchlorid

Gefahrenhinweise:	X <sub>i</sub>	reizend
R-Sätze:	36	
S-Sätze:	24	
Schmelzpunkt (°C):	30	

#### Natriumazid

Gefahrenhinweise:	T <sup>+</sup>	sehr giftig beim Verschlucken (entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase)
R-Sätze:	28-32	
S-Sätze:	28.1 - 45	
thermische Zersetzung (K):	573	
Entsorgung:	23	
WGK:	2	wassergefährdender Stoff
MAK mg/m <sup>3</sup> :	0,2	
MAK ml/m <sup>3</sup> :	0,07	

#### Natriumhydroxid

Gefahrenhinweise:	C	ätzend
R-Sätze:	35	
S-Sätze:	26 – 37/39 – 45	
Schmelzpunkt (°C):	324	
Siedepunkt (°C)	1390	
MAK mg/m <sup>3</sup>	2	

#### Natriumnitrat

Gefahrenhinweise:	O	brandfördernd
R-Sätze:	8	
S-Sätze:	16 – 41	
Schmelzpunkt (K):	582	
thermische Zersetzung (K):	653	
Entsorgung:	14	
WGK:	1	schwach wassergefährdender Stoff

**Salzsäure, rauchend, 37%**

Gefahrenhinweise:	C	ätzend
R-Sätze:	34 – 37	
S-Sätze:	26 – 36/37/39 – 45	
Siedepunkt (°C)	85	
Schmelzpunkt (°C):	-25	
MAK mg/m <sup>3</sup> :	7	
MAK ml/m <sup>3</sup> :	5	

**Toluol**

Gefahrenhinweise:	Xn	gesundheitsschädlich
	F	leichtentzündlich
		fruchtschädigender Stoff: C
R-Sätze:	11 - 20	
S-Sätze:	16 – 25 – 29 - 33	
Schmelzpunkt (K):	178	
Siedepunkt (K):	384	
Flammpunkt (K):	279	
Explosionsgrenze:	1,2-7 Vol-%	
Zündtemperatur (K):	808	
Entsorgung:	1	1 (halogenfreie Lösungsmittel)
WGK:	2	- wassergefährdender Stoff
MAK mg/m <sup>3</sup> :	190	
MAK ml/m <sup>3</sup> :	50	

## 8.4 Aufbau der Anlagen

Für die Bestimmungen der Molmasse sowie deren Verteilung mittels Größenausschlußchromatographie bzw. symmetrischer Fluß Feld-Fluß Fraktionierung gekoppelt mit Lichtstreuendetektor und Konzentrationsdetektor wurde die in **Abbildung 8.4-1** schematisch dargestellte Anlage verwendet.

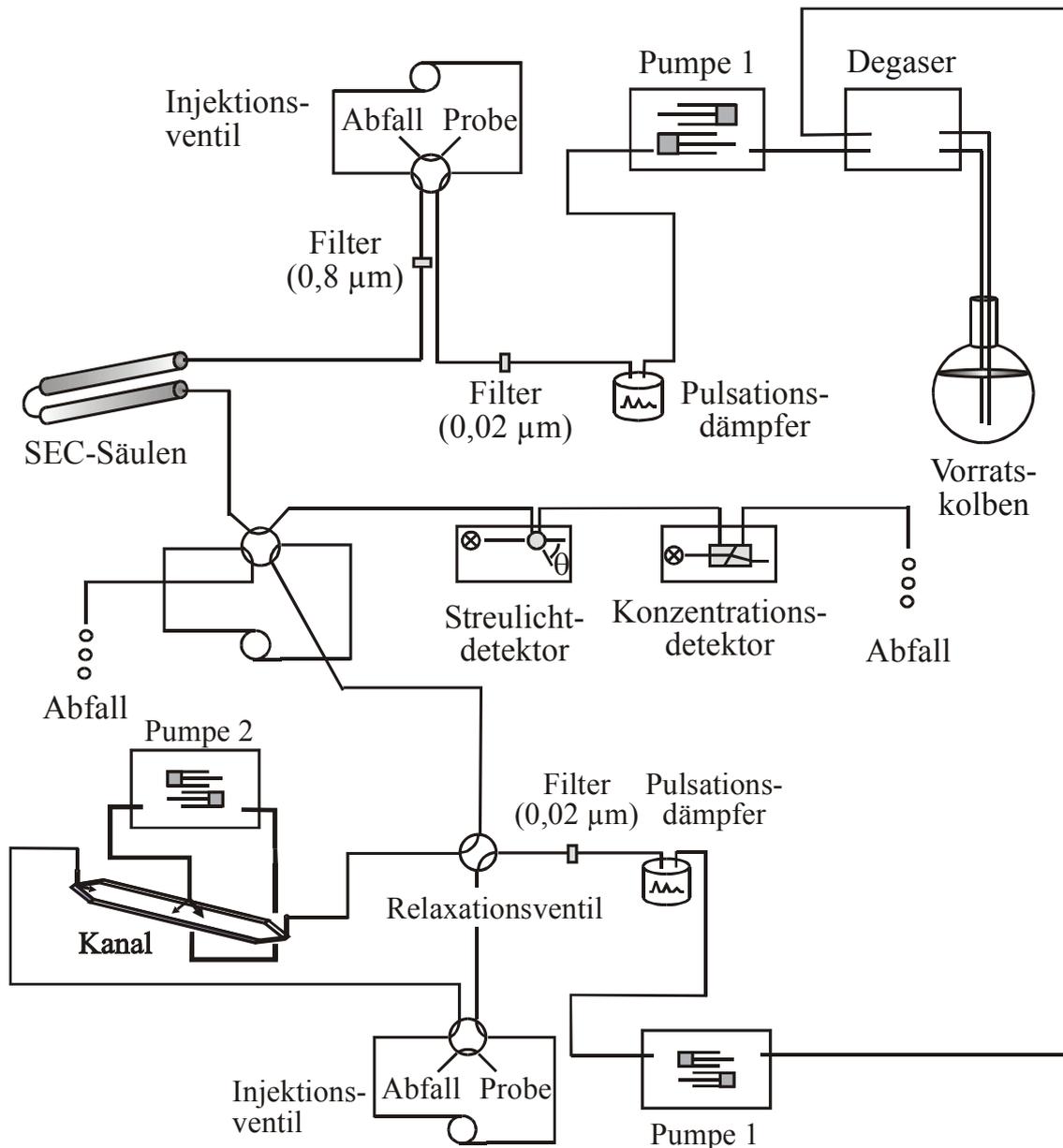


Abbildung 8.4-1 Schematischer Aufbau der verwendeten SEC/MALL/RI – und sFFFF/MALLS/RI-Anlage.

Die Anlage besteht aus einem Vorratsgefäß, in welchem sich das Elutionsmittel befindet. Der Trägerfluß wird durch Pumpe 1 gefördert, wobei das Elutionsmittel online degast wird. Es folgt ein Pulsationsdämpfer und ein online Filter. Für die SEC/MALLS/RI-Messungen ist nach dem Injektionsventil (= automatischer Probenaufgeber) nochmals ein online Filter geschaltet. Nach Trennung der Probe durch die SEC-Säulen gelangt die Lösung in das Lichtstreuphotometer und anschließend in den Konzentrationsdetektor. Für die sFFFF/MALLS/RI-Messungen wird der Querfluß durch Pumpe 2 gefördert. Nach dem Relaxationsventil gelangt die zu trennende Probe in den symmetrischen Kanal. Anschließend durchläuft sie Lichtstreuphotometer und Konzentrationsdetektor.

Der Aufbau der asymmetrischen Fluß Feld-Fluß Fraktionierungsanlage gekoppelt mit Lichtstreuphotometer und Konzentrationsdetektor ist in **Abbildung 8.4-2** abgebildet. Er unterscheidet sich etwas von dem Aufbau der sFFFF/MALLS/RI-Anlage. Pumpe 2 dient zur Injektion der Probenlösung. Im Elutionsmodus sind die Ventile geschaltet, wie es in der Abbildung eingezeichnet ist. Das Nadelventil N2 dient hierbei der Erzeugung eines ausreichenden Gegendrucks am Auslaß des Querflusses, damit der Fluß am Kanalauslaß mit Hilfe des Nadelventils N3 eingestellt werden kann. Im Fokussierungsmodus, d. h. bei der Aufkonzentration der Probe am Punkt  $z'$ , wird das Ventil V3 so geschaltet, daß der Fluß von der Pumpe 1 gespalten wird und von beiden Seiten in den Kanal fließt. Das Nadelventil N1 wird durch Schalten von V1 mit in den Fluß genommen und dient zur Einstellung des Fokussierungspunktes  $z'$ . Abschließend im Spülmodus wird das Ventil V2 geschaltet, so daß der Fluß nun rückwärts durch den Kanal fließt.

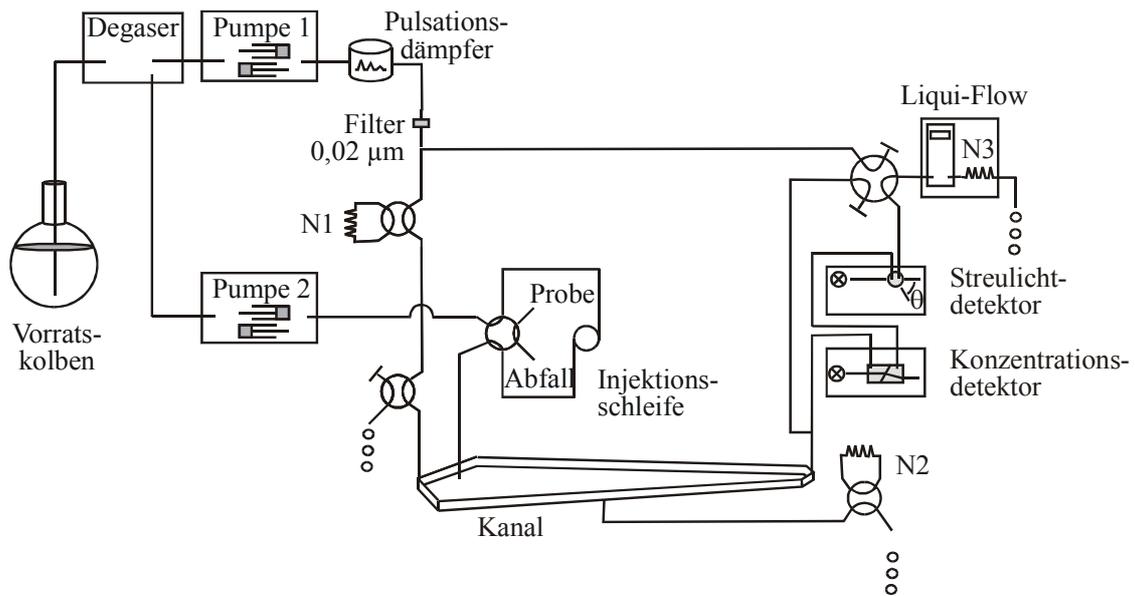


Abbildung 8.4-2 Schematische Aufbau der aFFF/MALLS/RI-Anlage.

## 8.5 Brechungsindexinkremente

Zur Bestimmung der Molmassenverteilungen mittels Lichtstreuung und Konzentrationsdetektion wird das Brechungsindexinkrement ( $dn/dc$ ) benötigt. Hierbei ist es wichtig, dass dieses im gleichen Lösungsmittel, der selben Temperatur und mit der gleichen Wellenlänge ermittelt wird. Im Rahmen dieser Arbeit wurden für die untersuchten Proben die Brechungsindexinkremente jeweils bei 298 K, einer Wellenlänge von 633 nm in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bestimmt. Lediglich der verwendete Wert der Hydroxypropylstärke ist von W. Vorwerg übernommen worden. **Tabelle 8.5-1** gibt eine Übersicht über die verwendeten Brechungsindexinkremente.

*Tabelle 8.5-1 Übersicht über die verwendeten Brechungsindexinkremente in wässriger 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 298 K und 633 nm.*

Substanz	$(dn/dc)$ (ml/g)
Acetylstärke	0,141
carboxymethyliertes $\beta$ -(1,3)-D-Glucan	0,148
Gerstenglucan	0,154
Guarkernmehl	0,147
Hydroxyethylstärke	0,140
Hydroxypropylstärke	0,146*
Wachsmaisstärke, $M_w < 500.000$ g/mol	0,135
Wachsmaisstärke, $M_w > 500.000$ g/mol	0,140

\* W. Vorweg, persönliche Mitteilung 2000

## 8.6 Herleitung für $M_w$ und $R_{G,z}$ aus der Lichtstreuung

Die relative Anzahl einer individuellen Komponente  $i$  eines polydispersen Systems wird üblicherweise durch den Massenanteil  $w_i$  ausgedrückt. Ist die Konzentration  $c_i$  einer Komponente im System sowie die Gesamtkonzentration  $c$  bekannt, kann der Massenanteil  $w_i$  durch **Gleichung 8.6-1** ausgedrückt werden.

$$w_i = \frac{c_i}{\sum_i c_i} = \frac{c_i}{c} \quad \text{Gleichung 8.6-1}$$

In einem System mit einer großen Anzahl an gelösten Spezies unterschiedlicher Molmasse, wird die Zusammensetzung über eine Verteilungsfunktion, z.B. der differentiellen Verteilung  $f_w(M)$  beschrieben. Das Produkt  $f_w(M)dM$  ergibt die Massenfraktion an Molekülen mit der Molmasse zwischen  $M$  und  $M + dM$ . Integriert man über die gesamte Funktion (**Gleichung 8.6-2**), so erhält man den Wert eins; man spricht von einer normierten Funktion.

$$\int_0^{\infty} f_w(M)dM = 1 \quad \text{Gleichung 8.6-2}$$

Die Messungen an polydispersen Systemen ergeben Durchschnittswerte. Hierbei ist bei der Lichtstreuung interessant, welchen Mittelwert man für die Molmasse und den Radius erhält.

Bei verdünnten Lösungen ergibt sich die Intensität  $R_{\vartheta,i}$  des gestreuten Lichts an den einzelnen Molekülen der Spezies  $i$  nach Gleichung 9 aus Kapitel 4.6 unter dem Beobachtungswinkel  $\vartheta = 0$  zu **Gleichung 8.6-3**.

$$R_{0,i} = K \cdot c_i \cdot M_i \quad \text{Gleichung 8.6-3}$$

In verdünnten polydispersen Lösungen kann man die Lichtstreuung der einzelnen Teilchen als unabhängig voneinander annehmen.  $R_{\vartheta,i}$  ergibt sich somit als Summe der Streuung an den einzelnen Teilchen (**Gleichung 8.6-4**).

$$R_0 = \sum_i R_{0,i} = K \cdot \sum_i c_i M_i = K \cdot c \cdot \bar{M} \quad \text{Gleichung 8.6-4}$$

Bei chemisch gleich aufgebauten Teilchen ist auch das Brechungsindexinkrement ( $dn/dc$ ) gleich und somit auch die optische Konstante  $K$ . Löst man **Gleichung 8.6-4** nach der durchschnittlichen Masse  $\bar{M}$  auf, ergibt sich nach **Gleichung 8.6-5** die Definition für die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$ . In Lichtstreuexperimenten erhält man also die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$ .

$$\bar{M} = \frac{R_0}{K \cdot c} = \frac{\sum_i c_i M_i}{c} = \frac{\sum_i c_i M_i}{\sum_i c_i} \equiv M_w \quad \text{Gleichung 8.6-5}$$

Will man den durchschnittlichen Radius ermitteln, muß man nach Gleichung 14, Kapitel 4.6, die Streufunktion  $P_\vartheta$  berücksichtigen. Die Intensität hierfür ist unter Berücksichtigung, daß man aus Lichtstreuexperimenten die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  erhält, nach **Gleichung 8.6-6** gegeben.

$$R_\vartheta = \sum_i R_{\vartheta,i} = K \cdot c \cdot M_w \cdot P_\vartheta = K \cdot \sum_i c_i M_i P_{\vartheta,i} \quad \text{Gleichung 8.6-6}$$

Die Streufunktion  $P_{\vartheta,i}$  einer einzelnen Spezies  $i$  erhält man für den Grenzwert des Winkels  $\vartheta$  gegen Null nach Gleichung 14, Kapitel 4.6 (**Gleichung 8.6-7**).

$$P_{g,i} = \lim_{g \rightarrow 0} P_g = 1 - \frac{1}{3} q^2 \langle R_G^2 \rangle_i \quad \text{Gleichung 8.6-7}$$

Durch Umformen von **Gleichung 8.6-6** und Einsetzen von **Gleichung 8.6-7** ergibt sich für die Streufunktion **Gleichung 8.6-8**.

$$\begin{aligned} P_g &= \frac{1}{M_w} \sum_i w_i M_i P_{g,i} = \frac{1}{M_w} \sum_i w_i M_i \left( 1 - \frac{1}{3} q^2 \langle R_G^2 \rangle_i \right) \\ &= 1 - \frac{1}{3} q^2 \frac{1}{M_w} \sum_i w_i M_i \langle R_G^2 \rangle_i \end{aligned} \quad \text{Gleichung 8.6-8}$$

Der letzte Term von **Gleichung 8.6-8** ist die Definition für den z-statischen Radius  $R_{G,z}$ .

$$\frac{1}{M_w} \sum_i w_i M_i \langle R_G^2 \rangle_i \equiv \langle R_G^2 \rangle_z \quad \text{Gleichung 8.6-9}$$

Nach **Gleichung 8.6-9** erhält man aus Streulichtexperimenten den z-statistischen Radius.

## 8.7 Literaturverzeichnis

- Adams**, H. A., Piepenbrock, S., Hempelmann, G., „*Volumenersatzmittel – Pharmakologie und klinischer Einsatz*“, *Anästhesiol Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* 33, **1998**, 2.
- Adams**, H. A., Hempelmann, G., „*Therapie mit Volumenersatzmitteln*“, *Anesthesiologie und Intensivmedizin* 10, **1991**, 277.
- Adolphi**, U., „*Untersuchungen der Lösungsstruktur wasserlöslicher Polysaccharide mittels kombinierter Querflußfraktionierung und Lichtstreuung*“, Dissertation Universität Hamburg, **1996**.
- Adolphie**, U., Kulicke, W.-M., „*Coil Dimensions and conformation of macromolecules in aqueous media from flow field-flow fractionation/multi-angle laser light scattering illustrated by studies on pullulan*“, *Polymer* 38 (7), **1997**, 1513.
- Asskali**, F., Förster, H., „*Acetyl-Stärke, Volumenersatz der Zukunft?*“, in: „Die Bedeutung der künstlichen Hydrokolloide als Ersatz von Albumin“, *Anaesthesist* 43 (Suppl. 1), **1994**, 11.
- Asskali**, F., Wind, S., Moudrianakis, J., Förster, H., „*Endotoxinclearance und Phagozytoseaktivität nach hochdosierter Infusion von Volumenersatzmittel (Hydroxyethylstärke, Acetylstärke, Gelatinederivat versus Ringerlactat) im Tierversuch*“, in: „Volumenersatz“, *Anaesthesist* 43 (Suppl. 1), **1994**, 227.
- Asskali**, F., Wind, S., Moudrianakis, J., Förster, H., „*Hochdosierte Infusion von Volumenersatzmittel Hydroxyethylstärke, Acetylstärke, Gelatinederivat versus Ringerlactat-Lösung) im Tierversuch*“, in: „Volumenersatz“, *Anaesthesist* 43 (Suppl. 1), **1994**, 260.
- Asskali**, F., Warnken, U., Förster, H., „*Acetylstärke als Volumenersatz, eine mögliche Alternative zu HES*“, *Dtsch. Med. Wschr.* 126, **2001**, 1.
- Atkins**, P. W., (Hrsg.), „*Physikalische Chemie*“, VCH Verlagsges. mbH Weinheim, **1987**, 619.
- Auterhoff**, H., Knabe, J., Höltje, H.-D., „*Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie*“, 13. Aufl., Wiss. Verlagsges. mbH Stuttgart, **1994**, 595.

- Bamforth**, C. W., „*Barley  $\beta$ -glucans: their role in malting and brewing.*“, *Brewers Digest* 35, **1982**, 22.
- Bamforth**, C. W., „ *$\beta$ -Glucan ans  $\beta$ -glucanases in malting and brewing: practical aspects.*“, *Brewers Digest* 59, **1994**, 12.
- Barth**, H. G., „*Water soluble polymers*“, *Adv. in Chemistry Series, Glass, J. E. (Hrsg.)*, Washington D. C., **1986**, 31.
- Basedow**, A. M., Ebert, K. H., „*Ultrasonic Degradation of Polymers in Solution*“, *Adv. Polym. Sci.* 22, **1977**, 83.
- Behne**, M., Förster, H., Asskali, F., Thomas, H., Lischke, V., „*Initiale Halbwertszeit zur Beschreibung der Pharmakokinetik von Kolloiden*“, *Anästhesiol Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* 32 (Supp 1), **1997**, 174.
- Belitz**, H.-D., Grosch, W., „*Lehrbuch der Lebensmittelchemie*“, Berlin **1992**.
- Bergmann**, H., „*Künstliche Kolloide und biologische Volumenersatzlösungen.*“, in: Ahnefeld, F. W., Bergmann, H., Kilian, J., Kubanek, B., Weißbauer, W. (Hrsg.), „*Fremdblutsparende Methoden*“, Springer Verlag Heidelberg, **1993**, 62.
- Bird**, R. B., Armstrong, R. C., Hassager, O., „*Dynamics of polymeric liquids*“, John Wiley New York, **1977**, 169.
- Bledzki**, A. K., Gassan, J., „*Natürliche Verstärkungsfaser für Kunststoffe*“, *Spektrum der Wissenschaft*, **1996**, 96.
- Bohn**, J.A., Bemiller, J. N., „*(1,3)- $\beta$ -D-glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships*“, *Carbohydr. Polm.* 28, **1995**, 3.
- Brandrup**, J., Immergut, E. H., „*Polymer Handbook*“, Grulke, E. A.: (Hrsg.), Wiley & Sons Inc. New York, 4. Aufl., **1999**.
- Braun**, „*Rheohes 40, wissenschaftliche Basisinformation*“, Braun, Geschäftsbereich Pharma, B. Braun Melsungen AG 4.4.**1992**.
- Buliga**, G. S., Brant, D. A., Fincher, G. B., „*The sequence statistics and solution configuration of barley (1,3, 1,4)- $\beta$ -D-glucan*“, *Carbohydr. Res.* 157, **1986**, 139.

- Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten**, (Hrsg.)  
„*Nachwachsende Rohstoffe*“, Konzept der Bundesregierung zur Förderung von  
Forschungs-, Entwicklungs- und Demonstrationsvorhaben 1996 – 2000,  
Mitteldeutsche Druckanstalt Heidenau GmbH, **1996**.
- Burchard**, W., „*Static and Dynamic Light Scattering from Branched Polymers and  
Biopolymers*“, Adv. in Polym. Sci. **48**, **1983**, 1.
- Caldwell**, K. D., „*Field-Flow Fractionation*“, Anal. Chem., **60**, **1988**, 959 A.
- Caldwell**, K. D., Gao, Y.-S., „*Electrical field-flow fractionation in particle separation.  
Monodisperse standards*“, Anal. Chem **65**, **1993**, 1764.
- Casassa**, E.F., „*Equilibrium distribution of flexible polymer chains between macroscopic  
solution phase and small voids*“, J. Polym. Sci., Part B, **5**, **1967**, 773.
- Casassa**, E. F., „*Theoretical models for peak migration in gel permeation  
chromatography*“, J. Phys. Chem. **75**, **1971**, 3929.
- Casassa**, E.F., „*Gel chromatography of once-broken rod molecules*“, J. Polym. Sci., Part  
A-2, **10**, **1972**, 381.
- Clasen**, C., „*Neue Charakterisierungsmöglichkeiten von supramolekularen Strukturen in  
Biopolymerlösungen mit rheo-optischen Methoden*“, Dissertation Universität  
Hamburg, **2001**.
- Cölfen**, H., Antonietti, M., „*Field-Flow Fractionation Techniques for Polymer and  
Colloid Analysis*“, Adv. Polym. Sci. **150**, **1999**, 67.
- Daniel**, J. R., Whistler, R. I., Voragen, A. C. J., Pilnik, W., in: „*Ullmann's Eyclopedia of  
Industrial Chemistry*“, Vol. A 25, VCH Weinheim, **1994**.
- Debye**, P., „*Light scattering in solutions*“, J. Appl. Phys. **15**, **1944**, 338.
- Debye**, P., „*Molecular-weight determination by light scattering*“, Phys. Coll. Chem. **51**,  
**1947**, 18.
- Debye**, P., „*Angular dissymmetry of the critical opalescence in liquid mixtures*“, J. Chem.  
Phys. **31**, **1959**, 680.

- Dieterich**, H. J., Grohl, J., Peter, K., „*Volumenersatzlösungen*“, in: Hartig, W. (Hrsg.), „*Moderne Infusionstherapie, Künstliche Ernährung*“, Zuckschwerdt Verlag München, **1994**, 561.
- DIN 1319**, „*Grundbegriffe der Meßtechnik, Teil 3: Begriffe für die Meßunsicherheit und für die Beurteilung von Meßgeräten und Meßeinrichtungen*“.
- Domsch**, A., „*Die kosmetischen Präparate*“, Verlag für chem. Industrie, Augsburg, **1992**.
- DSD**, Duales System Deutschland. Name der Gesellschaft, die das Wertstoffrecycling betreibt.
- Dumelow**, T., Holding, S. R., Maisey, L. J., „*Low-angle laser light scattering for determination of molecular weights – an interlaboratory comparison*“, Polym. Commun. **24**, **1983**, 307.
- Dunkel**, M., Tri, N., Beckett, R., Caldwell, K.D., „*Electrical FFF: A Tool for Characterization of Colloidal Adsorption Complexes*“, J. Microcol. Sep. **9**, **1997**, 177.
- Eggersdorfer**, M., „*Perspektiven nachwachsender Rohstoffe in Energiewirtschaft und Chemie*“, Spektrum der Wissenschaft, **1994**, 96.
- Eierdanz**, H., „*Perspektiven nachwachsender Rohstoffe in der Chemie*“, VCH Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo, **1996**.
- Einstein**, A., „*Eine neue Bestimmung der Moleküldimension*“, Ann. Phys. **19**, **1906**, 289.
- Einstein**, A., „*Theory of Opalescence of Homogeneous Liquids and Mixtures of Liquids in the Vicinity of the Critical State*“, Ann. Phys. **33**, **1910**, 1275.
- Elias**, H. G., „*Makromoleküle: Struktur, Eigenschaften, Synthesen, Stoffe, Technologie*“, 4.Aufl., Hüttig und Wepf Verlag Heidelberg, **1981**.
- Erhart**, G., Ruschig, H., „*Arzneimittel*“, Bd. 1, 1. Aufl., Verlag Chemie Weinheim, **1968**.
- Estler**, C.-J., „*Lehrbuch der allgemeinen und systematischen Pharmakologie und Toxikologie*“, Schattauer Stuttgart, **1986**, 251.
- Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V.**, „*Fachinformationen für die Presse*“, **1998**.

- Flory, J. P., Fox, T. G.,** „*Treatment of Intrinsic Viscosities*“, J. Am. Chem. Soc. 73, **1951**, 1904.
- Flory, P. J.,** „*Die Konformation linearer Moleküle (Nobel-Vortrag)*“, Angew. Chem. 22, **1975**, 787.
- Fömmel, D., Asskali, F., Förster, H.,** „*Veränderung des Substitutionsgrades und des Substitutionsmusters von HES nach i.v. Applikation im Menschen*“, in: „*Volumenersatz*“, Anaesthesist 43 (Suppl. 1), **1994**, 229.
- Forrest, L. S., Wainwright, T.,** „*The mode of binding of  $\beta$ -glucans and pentosans in barley endosperm cell walls*“, J. Inst. Brew. 83, **1977**, 279.
- Förster, H.,** „*Biochemische Grundlagen zur Verwendung von polymeren Kohlehydraten als Plasmaersatz*“, Beitr. Anaesth. Intensivmed. 26, **1988**, 27.
- Förster, H., Asskali, F., Nitsch, E.,** „*Metabolisierbarer Plasmaersatz*“, Offenlegungsschrift DE 41 22 999 A 1, 14.1.**1993**.
- Förster, H., Asskali, F., Nitsch, E.,** „*Verfahren zu Herstellung von Stärkeestern für klinische, insbesondere parenterale Anwendung*“, Offenlegungsschrift DE 41 23 000 A 1, 14.1.**1993**.
- Förster, H.,** „*Einführung: Hydrokolloide im Vergleich mit Albumin*“, Anaesthesist 43 (Suppl. 1), **1994**, 9.
- Forth, W., Henschler, D., Rummel, W.,** „*Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*“, Wissenschaftsverlag Mannheim, **1987**, 169.
- Franz, G.,** „*Struktur und biologische Funktionen von Polysacchariden*“, in: Polysaccharide, Burchard, W., (Hrsg.), 1. Aufl., Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, **1985**, 1.
- Franz, G. (Hrsg.),** „*Polysaccharide*“, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona, Budapest, **1991**.
- Freifelder, D.,** „*Applications to biochemistry and molecular biology*“, in: „Phys. Biochem.“, WH Freeman and Co. San Francisco, Kapitel 13, **1982**.
- Geerissen, H., Schützeichel, P., Wolf, B. A.,** „*Continuous Fractionation and Solution Properties of PIB. II. CPF Optimization*“, J. Appl. Polym. Sci. 34, **1987**, 287.

- Geerissen, H.,** Schützeichel, P, Wolf, B. A., „*Large scale fractionation of polyethylene by means of the continuous polymer fractionation (CPF) method*“, Makromol. Chem. 191, **1990**, 659.
- Geschke, D.,** „*Physikalisches Praktikum für Anfänger*“, Teubner-Verlag Leipzig, **1998**.
- Gesellschaft für Spezialfolienentwicklung mbH,** „*Produktmitteilung*“, **1998**.
- Giddings, J. C.,** „*A new separation concept based on a coupling of concentration and flow nonuniformities*“, Sep. Sci. 1, **1966**, 123.
- Giddings, J. C.,** „*Nonequilibrium Theory of Field-Flow Fractionation*“, J. Chem. Phys. 49, **1968**, 81.
- Giddings, J. C.,** Kucera, E., Russel, C. P., Myers, M. N., „*Statistical theory for the equilibrium distribution of rigid molecules in inert porous networks. Exclusion Chromatography*“, J. Phys. Chem. 72, **1968**, 4397.
- Giddings, J. C.,** Yang, F. J., Myers, M. N., „*Theoretical and Experimental Characterization of Flow Field-Flow Fractionation*“, Anal. Chem. 48, **1976**, 1126.
- Giddings, J. C.,** Yang, F. J., Myers, M. N., „*Flow Field-Flow Fractionation: a versatile new separation method*“, Science 193, **1976**, 1244.
- Giddings, J. C.,** Lin, G.-C., Myers, M. N., „*Fractionation and Size Distribution of Water Soluble Polymers by Flow Field-Flow Fractionation*“, J. Liq. Chrom. 1 (1), **1978**, 1.
- Giddings, J. C.,** „*Displacement and Dispersion of Particles of Finite Size in Flow Channels with Lateral Forces. Field-Flow Fractionation and Hydrodynamic Chromatography*“, Sep. Sci. Technol. 13, **1978**, 241.
- Giddings, J. C.,** Myers, M. N., „*Steric Field-Flow Fractionation: A new method for separating 1 – 100  $\mu\text{m}$  Particles*“, Sep. Sci. Technol. 13, **1978**, 637.
- Giddings, J. C.,** Graff, K. A., Caldwell, K. D., Myers, M. N., „*Field-Flow Fractionation: Promising approach for the separation and characterization of macromolecules*“, ACS Advances in Chemistry Series, No. 203, Craver, C. D. (Hrsg.), **1983**, 257.

- Giddings, J. C.**, „*Hyperlayer Field-Flow Fractionation*“, Sep. Sci. Technol. 18, **1983**, 257.
- Giddings, J. C.**, „*Separation using perpendicular flow, F(+): field-flow fractionation, chromatography and related methods*“, Unified Separation Science, J. Wiley & Sons New York, **1991**, 189.
- Giddings, J. C.**, „*Hyperlayer Field-Flow Fractionation: State of Development*“, American Laboratory, **1992**, 20 D.
- Giddings, J. C.**, „*Field-Flow Fractionation: Analysis of Macromolecular, Colloidal, and Particulate Materials*“, Science 260, **1993**, 1456.
- Gohl, B., Gohl, I.**, „*Effect of viscous substances on transit-time of barley digesta in rats*“, J. Sci. Food Agric. 28, **1977**, 911.
- Gómez, C., Navarro, A., Manzanares, P., Horta A., Carbonell, J. V.**, „*Physical and structural properties of barley (1,3),(1,4)- $\beta$ -D-glucan. Part I. Determination of molecular weight and macromolecular radius by light scattering*“, Carbohydr. Poly. 32, **1997**, 7.
- Granath, K. A., Strömberg, R., de Belder, A. N.**, „*Studies on Hydroxyethyl Starch*“, Stärke 21 (10), **1969**, 251.
- Greenway, T. M.**, in „*Cellulosic polymers*“, Gilbert R.D. (Hrsg.), Carl Hanser Verlag München, **1994**.
- Grimm, A., Krüger, E., Burchard, W.**, „*Solution properties of  $\beta$ -(1,3)(1,4)-glucan isolates from beer*“, Carbohydr. Polym. 27, **1995**, 205.
- Gunderson, J. J., Giddings, J. C.**, „*Field-Flow Fractionation*“, in: „*Comprehensive Polymer Science*“, Booth, C., Price, C. (Hrsg.), Vol. I Polymer Characterization, Pergamon Press Oxford, **1989**, 279.
- Halmágyi, M.**, „*Zur Bewertung des kolloidalen Volumenersatzmittels 6% HÄS 40/0,5*“, Anaesthesist 33, **1984**, 73.
- Harris, P. J., Henry, R. J., Blakeney, A.B., Stone, B. A.**, „*An improved procedure for the methylation analysis of oligosaccharides and polysaccharides*“, Carbohydr. Res. 127, **1984**, 59.

- Hartig, W.**, in: Symposiumsbericht: „50 Jahre Dextran als kolloidaler Volumenersatz“, Wissenschaftliche Nachrichten und Mitteilungen der Serum-Werke Bernburg AG, Heft 1, **1993/94**, 21.
- Heins, D.**, Kulicke, W.-M., Käuper, P., Thieking, H., „*Characterization of Acetyl Starch by Means of NMR Spectroscopy and SEC/MALLS in Comparison with Hydroxyethyl Starch*“, Starch/Stärke 50, **1998**, 431.
- Heins, D.**, „*Charakterisierung von Stärkederivaten mittels Größenausschlußchromatographie, Fluss-Feldfluss-Fraktionierung und Lichtstreuung*“, Dissertation Universität Hamburg, Shaker Verlag Aachen, **2000**, 95.
- Henrikson, K.**, Telemann, A., Suortti, T., Reinikainen, T., Jaskari, J., Telemann, O., Poutanen, K., „*Hydrolysis of barley (1,3),(1,4)- $\beta$ -D-glucan by cellobiohydrolase II preparation from Trichoderma reesei*“, Carbohydr. Polym. 26, **1995**, 109.
- Hoffmann, M.**, „*Polymeranalytik*“, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1977**, 225
- Ilberg, W.**, „*Physikalisches Praktikum*“, 10. Aufl., B. G. Teubner Verlagsgesellschaft Stuttgart, Leipzig, **1994**
- IMS Institut für Medizinische Statistik**, Frankfurt, **1998**.
- Izawa, M.**, Kano, Y., Koshino, S., „*Relationship between structure and solubility of (1,3),(1,4)- $\beta$ -D-glucan from barley*“, J. Am. Soc. Brew. Chem. 51, **1993**, 123.
- Jackson, C.**, Nielson, L. M., Wyatt, P. J., „*Characterization of Biopolymers Using a Multi-Angle Light Scattering Detector with Size Exclusion Chromatography*“, J. Appl. Polym. Sci. Appl. Polym. Symp. 43, **1989**, 99.
- Jakubke, H.-D.**, Jeschkeit, H. (Hrsg.), Brockhaus Chemie, Bd.2, 5.Aufl., VEB F. A. Brockhaus Verlag, Leipzig, **1987**.
- Janca, J.**, Kleparnik, K., Jahnova, V., Chmelik, J., „*Progreß in Field-Flow Fractionation: Theory, Methodology and Applications*“, J. Liq. Chrom. 7, **1984**, 1.
- Janca, J.**, „*Field-Flow Fractionation: Analysis of Macromolecules and Particles*“, Chromatographic Science-Series 39, **1988**, 336.
- Johann, C.**, Labor Praxis, Dezember **1989**.

- Johann, C.**, „FFF zur Charakterisierung von Polymeren und Partikeln“, CLB Chemie in Labor und Technik 47, **1996**, 355.
- Jung, F.**, Koscielny, J., Mrowietz, C., Förster, H., Schimetta, W., Kiesewtter, H., Wenzel, E., „Einfluß der Molekülstruktur von Hydroxyethylstärke auf die Eliminationskinetik und die Fließfähigkeit des Blutes bei Probanden“, Arzneim.-Forsch./Drug. Res. 43 (1), **1993**, 99.
- Kaiser, U.**, „Bestimmung der Molmassen und Molmassenverteilungen zur Charakterisierung von Polysacchariden“, Dissertation Universität Hamburg, **1991**.
- Kato, Y.**, Matsuda, T., Hashimoto, T., „New gel permeation column for separation of water-soluble polymers“, J. Chrom. 332, **1985**, 39.
- Kern, W.**, „Methyl- and carboxymethyl-cellulose in the gastrointestinal tract“, Pharm. Ind. 21, **1959**, 45.
- Khosropour, R.**, Lachner, F., Steinbereithner, K., Watzek, Piza, F., Wagner, O., Amesberger, C., „Vergleich der Wirkung von prä- und intraoperativ verabreichter mittelmolekularer Hydroxyäthylstärke (HÄS 200/0,5) bzw. von Dextran 40 (60) bei gefäßchirurgischen Eingriffen“, Anaesthesist 29, **1980**, 616.
- Kirkland, J. J.**, Yau, W. W., Doerner, W. A., Grant, J. W., „Sedimentation field flow fractionation of macromolecules and colloids“, Anal Chem. 52 (12), **1980**, 1944.
- Klein, J.**, Kulicke, W.-M., Hollmann, J., „Chromatographie zur Bestimmung der Molmassen und Teilchengrößenverteilungen von Polymeren“, in „Analytiker Taschenbuch“, Springer-Verlag Berlin Bd. 19, **1998**, 317.
- Kniewke, R.**, Kulicke, W.-M., „Study on the Molecular Weight Dependence of Dilute Solution Properties of Narrowly Distributed Polystyrene in Toluene and in the Unperturbed State“, Makomol. Chem. 184, **1983**, 2173.
- Knop, S.**, „Synthese und Charakterisierung von Symplex-Membranen zur Pervaporation von Alkohol-Wasser-Mischungen“, Dissertation Universität Hamburg, **2000**.

- Köhler**, H., Kirch, W., Pitz, H., „*Volumenzweiteffekt nach Infusion von Hydroxyäthylstärke*“, *Klin. Wochenschr.* 56, **1979**, 977.
- Köhler**, H., Zschiedrich, H., Linfante, A., Appel, F., Pitz, H., Clasen, R., „*Die Elimination von Hydroxyäthylstärke 200/0,5, Dextran 40 und Oxypolygelantine*“, *Klin. Wochenschr.* 60, **1982**, 293.
- Kratochvil**, P., „*Classical Light Scattering from Polymer Solutions*“, Jenkins, A. D. (Hrsg.), *Polymer Science Library* 5, Elsevier, **1987**.
- Kreveld**, M. E. van, Hoed, N. van den, „*Mechanism of gel permeation chromatography distribution coefficient*“, *J. Chrom.* 83, **1973**, 111.
- Kröll**, W., List, W. F., „*Volumenersatz mit Kolloiden*“, *Beitr. Anaesth. Intensivmed.* 31, **1990**, 13.
- Kulicke**, W.-M., Böse, N., „*Bestimmung der Molmassenverteilung sowie der Stabilitätsgrenze von Polyacrylamiden unter Benutzung einer kombinierten Ausschlußchromatographie-Kleinwinkel-Laser-Streulicht-Photometer-Anlage*“, *Coll. & Polym. Sci.* 262, **1984**, 197.
- Kulicke**, W.-M. (Hrsg.), „*Fließverhalten von Stoffen und Stoffgemischen*“, Hüthig und Wepf, Heidelberg, **1986**.
- Kulicke**, W.-M., Otto, M., Baar, A., „*Improved NMR characterization of high-molecular-weight polymers and polyelectrolytes through the use of preliminary ultrasonic degradation*“, *Makromol. Chem.* 194, **1993**, 751.
- Kulicke**, W.-M., Roessner, D., Kull, W., „*Characterization of Hydroxyethyl Starch by Polymer Analysis for Use as a Plasma Volume Expander*“, *starch/stärke* 45 (12), **1993**, 445.
- Kulicke**, W.-M., Lange, S., Heins, D., „*Advantages of Determining the Molar Mass Distribution of water-soluble Polymers and Polyelectrolytes with FFFF/MALLS and SEC/MALLS*“, in: „*Chromatography of Polymers, Hyphenated and Multidimensional Techniques*“, Provder, T. (Hrsg.), *ACS Symposium Series* 731, Washington, USA, **1999**.

- Laevosan** Gesellschaft m.b.H., Linz, „*ExpaHES (HES 200/0,5) 10%*“, Produktinformation 2/1994.
- Lange, S.**, „*Bestimmung der Molmasse, der Molmassenverteilung und der Konformation von Polysacchariden und deren Derivaten aus nachwachsenden Rohstoffen*“, Dissertation Universität Hamburg, 1999.
- Laubenthal, H.**, „*Nebenwirkungen von Kolloiden*“, in: „Die Bedeutung der künstlichen Hydrokolloide als Ersatz von Albumin“ *Anaesthesist 43 (Suppl. 1)*, 1994, 11.
- Laurent, T. C., Killander, J.**, „*A theory of gel filtration and its experimental verification*“, *J. Chrom. 14*, 1964, 317.
- Lechner, H.-L., Nordmeier, E. H., Gehrke, K.**, „*Makromolekulare Chemie*“, Birkhäuser Verlag Basel, 1993.
- Lee, H.-L., Reis, J. F. K., Dohner, J., Lightfoot, E. N.**, „*Single-phase chromatography: solute retardation by ultrafiltration and electrophoresis*“, *AIChE J. 20*, 1974, 776.
- Litzén, A., Wahlund, K.-G.**, „*Zone Broadening and Dilution in Rectangular and Trapezoidal Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation Channels*“, *Anal. Chem. 63*, 1991, 1001.
- Litzén, A.**, „*Separation Speed, Retention, and Dispersion in Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation as Function of Channel Dimensions and Flow Rates*“, *Anal. Chem. 65*, 1993, 461.
- Lucas Meyer**, The lecithin People, Technisches Datenblatt, 2000.
- Lutz, H. (Hrsg.)**, „*Plasmaersatzmittel*“, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1975.
- Mächtle, W.**, in: „*Analytical Ultracentrifugation in Biochemistry and Polymer Science*“, Harding, S. E. (Hrsg.), Royal Society of Chemistry Cambridge, 1992.
- Malhotra, S. L.**, „*Ultrasonic degradation of hydroxypropylcellulose solutions in water, ethanol, and tetrahydrofuran*“, *Macromol. Sci. Chem. A 17 (4)*, 1982, 601.
- Mann, S.**, „*Nachwachsende Rohstoffe*“, Ulmer Verlag Stuttgart, 1998.

- Meier**, B., Assakli, F., Abasi, Z. M., Förster, H., „*Intraoperative Blutvolumenbestimmung mit Hydroxyethylstärke. – Eine einfache und schnelle Methode zur Erfassung von Blutverlusten*“, in: „Volumenersatz“, *Anaesthesist* 43 (Suppl. 1), **1994**, 230.
- Metcalf**, W., Papadopoulos, A., Tufaro, R., Barth, A., „*A clinical physiologic study of hydroxyethyl starch*“, *Surg. Gynecol.Obstet.* 131, **1970**, 255.
- Mie**, G., „*Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. (An optical characteristics of turbid media with special reference to metallic solutions)*“, *Ann. Phys.* 25, **1908**, 377.
- Morgenpost**, „*Der Doping-Skandal von Lathi*“, **20.2.2001**
- Mori**, S., Barth, H. G., „*Size Exclusion Chromatography*“, Springer Berlin, **1999**.
- Mortelmans**, Y., Merck, E., Nerom, C. van, Verbruggen, A., Aken, H. van, Roo, M. de, Mortelmans, L., „*Effect of an equal volume replacement with 500 mL 6 % hydroxyethyl starch on the blood and plasma volume of healthy volunteers*“, *Eur. J. Anaesth.* 12, **1995**, 259.
- Mutschler**, E., „*Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*“; 7.Aulf., Wiss. Verlagsges. mbH Stuttgart, **1997**.
- Mutschler**, E., „*Arzneimittelwirkungen*“, Wissenschaftl. Verlagsges. Stuttgart, 4. Aufl., **1981**.
- Myers**, M. N., Giddings, J. C., „*Properties of the Transition from Normal to Steric Field-Flow Fractionation*“, *Anal. Chem.* 54, **1982**, 2284.
- Myers**, M. N., „*Overview of Field-Flow Fractionation*“, *J. Microcolumn Sep.* 9, **1997**, 151.
- Narziß**, L., Reicheneder, E., Edney, M. J., „*Studying beer filtration with an accurate  $\beta$ -glucan assay*“, *Monatsschr. Brauw.* 42 (7), **1989**, 277.
- Narziß**, L., Reicheneder, E., Edney, M. J., „*Importance of  $\beta$ -glucan size and concentration in malting*“, *Monatsschr. Brauw.* 42 (11), **1989**, 430.
- Narziß**, L., „ *$\beta$ -Glucans and beer filterability*“, *Brauwelt* 37, **1992**, 1696.

- Newman**, R. K., Newman, C. W., Graham, H., „*The hypocholesterolemic function of barley  $\beta$ -glucans*“, *Cereal Foods World* 34, **1989**, 883.
- Nishinari**, K., Kohyama, K., Williams, P. A., Phillips, G. O. Burchard, W., Ogino, K., „*Solution Properties of Pullulan*“, *Macromolecules* 24, **1991**, 5590.
- Ogston**, A. G., „*The spaces in a uniform random suspension of fibres*“, *Trans. Faraday Soc.* 54, **1958**, 1754.
- Pöhlmann**, R., „*Hydroxyethylstärke: Chemische Charakterisierung und Pharmakokinetik*“, *Krankenhauspharmazie* 12 (11), **1991**, 496.
- Pomeranz**, Y., „*Functional properties of food components*“, Academic Press, San Diego **1991**.
- Porath**, J., Flodin, P., „*Gel filtration – a method for desalting and group separation*“, *Nature* 183, **1959**, 1657.
- Provdner**, T., (Hrsg.) „*Chromatography of Polymers*“, ACS Washington, **1993**.
- Pschyrembel**, W., „*Klinisches Wörterbuch mit klinischen Syndromen*“, 251. Aufl., de Gruyter Verlag **1972**.
- Radosta**, S., Fraunhofer Institut für Polymerforschung, Golm, persönliche Mitteilung Februar **2000**.
- Raman**, C. V., „*Relation of Tyndall Effect to Osmotic Pressure in Colloidal Solutions*“, *Indian J. Phys.* 2, **1927**, 1.
- Ratanathanawongs**, S. K., Giddings, J. C., „*Particle Size Analysis using Flow-Field Fractionation*“, in: „*Chromatography of Polymers: Characterization by SEC and FFF*“, Provdner, T. (Hrsg.), ACS Symposium Series 521, **1993**, 13.
- Rayleigh**, J. W. Strutt., „*On James Bernoulli's theorem in probabilities*“, *Philos. Mag.* 47(5), **1899**, 246.

- Reuter**, H. D., „*Mittel zur Behandlung von Anämien, zum Blutersatz, zur Behandlung von Hämostasestörungen und zur Verbesserung der Fließeigenschaften des Blutes*“, in: Estler, C.-J., „Lehrbuch der allgemeinen und systematischen Pharmakologie und Toxikologie“, Kapitel 14, Schattauer Verlag Stuttgart, **1986**, 251.
- Roessner**, D., Kulicke, W.-M., „*On-Line Coupling of Flow Field-Flow Fractionation and Multi-Angle Laser Light Scattering*“, J. Chromatogr. A. 687, **1994**, 249.
- Römpf** Chemie Lexikon, Version 2.00, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1995**.
- Schauer**, T., „*Feldflußfraktionierung*“, GIT Fachz. Lab. 9, **1993**, 739.
- Schimpf**, M. E., „*Advances in field-flow fractionation for polymer analysis*“, Trends Polym. Sci. 4, **1996**, 114.
- Schimpf**, M. E., „*Characterization of Polymers by thermal field-flow fractionation*“, J. Chrom. 517, **1990**, 405.
- Schlichting**, H., Ucke, C., „*Hinweise zur Beurteilung von Messungen, Messergebnissen und Messabweichungen (ABW) Fehlerbetrachtung*“, Oktober **2001**.
- Schmuck**, B., „*Physikochemische Grundlagen der Volumenersatzmittel*“, in: Bernburger Kolloquium, „Symposiumsbericht: 50 Jahre Dextran als kolloidaler Volumenersatz“, Wissenschaftliche Nachrichten und Mitteilungen der Serum-Werke Bernburg AG, Heft 1, **1993/94**.
- Schnabel**, W., „*Polymerdegradation*“, Carl Hanser Verlag München, **1981**.
- Scott**, R. W., „*Solubility of  $\beta$ -glucan during mashing*“, J. Inst. Brew. 78, **1972**, 411.
- Shelanski**, H. A., Clark, A. M., „*Physiological action of sodium carboxymethylcellulose on laboratory animals and human subjects*“, Food Res. 13, **1948**, 29.
- Sirtl**, C., Laubenthal, H., Dieterisch, H. J., Hülger, P., Peter, K., „*Nebenwirkungen von künstlichen kolloidalen Plasmaersatzmitteln unter besonderer Berücksichtigung von Hydroxyethylstärke (HES)*“, Beitr. Anaesth. Intensivmed. 31, **1990**, 35.
- Smoluchowski**, M. v., „*Molekular-kinetische Theorie der Opaleszens von Gasen im kritischen Zustande, sowie einiger verwandter Erscheinungen*“, Ann. Phys. 25, **1908**, 205.

- Smoluchowski**, M. v., „*On Opalescence of Gases in the Critical State*“, *Phil. Mag.* 23, **1912**, 165.
- Sommermeyer**, K., Cech, F., Schmidt, M., Weidler, B., „*Klinisch verwendete Hydroxyethylstärke: Physikalisch-chemische Charakterisierung*“, *Krankenhauspharmazie* 8 (8), **1987**, 271.
- Sommermeyer**, K., „*Neue Entwicklungen zur physikalisch-chemischen Charakterisierung von HES*“, in: „*Hydroxyethylstärke – Eine aktuelle Übersicht*“, Lawin, P., Zander, J., Weidler, B., Thieme Verlag Stuttgart, **1989**, 1.
- Sundaralingam**, M., „*Some aspects of stereochemistry and hydrogen bonding of carbohydrates related to polysaccharide conformations*“, *Biopolym.* 6 (2), **1968**, 189.
- Tegge**, G., „*Stärke und Stärkederivate*“, Behr's Verlag Hamburg, **1984**.
- Thielking**, H., Roessner, D., Kulicke, W.-M., „*On-Line Coupling of Flow Field-Flow Fractionation and Multi-Angle Laser Light Scattering for the Characterization of Polystyrene Particles*“, *Anal. Chem.* 67, **1995**, 3229.
- Thielking**, H., Kulicke, W.-M., „*On-Line Coupling of Flow Field-Flow Fractionation and Multi-Angle Laser Light Scattering for the Characterization of Macromolecules in Aqueous Solution as Illustrated by Sulfonated Polystyrene Samples*“, *Anal. Chem.* 68, **1996**, 1169.
- Thielking**, H., Adolphi, U., Kulicke, W.-M., „*Transverse fractionation coupled with light scattering*“, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 44 (4), **1996**, 370.
- Thielking**, H., Kulicke, W.-M., „*Determination of the Structural Parameters of Aqueous Polymer Solutions in the Molecular, Partially Aggregated, and Particulate States by Means of FFF / MALLS*“, *J. Microcolumn Sep.* 10 (1), **1998**, 51.
- Tieke**, B., „*Makromolekulare Chemie: Eine Einführung*“, VCH Weinheim, **1997**, 213.

**Treib, J.,** Haaß, A., Pindur, G., Seyfert, U. T., Treib, W., Grauer, M. T., Jung, F., Wenzel, E., Schimrigk, K., „*HES 200/0,5 Is not HES 200/0,5, Influence of the C2/C6 Hydroxyethylation Ratio of Hydroxyethyl Starch (HES) on Hemorheology, Coagulation and Elimination Kinetics*“, *Thrombosis and Haemostasis* 74 (6), **1995**, 1452.

**Tri, N.,** Caldwell, K. D., Beckett, R., „*Development of Electrical Field-Flow Fractionation*“, *Anal. Chem.* 72, **2000**, 1823.

**Twenty-Eighth Annual International Waterborne, High-Solids, and Power Coatings Symposium,** New Orleans, Louisiana, February 21-23, **2001**.

**Vaarum, K. M.,** Smidsroed, O., Brant, D. A., „*Light scattering reveals micelle-like aggregation in the (1,3),(1,4)- $\beta$ -D-glucans from oat aleurone*“, *Food Hydrocoll.* 5 (6), **1992**, 497.

**VCI,** Verband der chemischen Industrie, „*Umweltbericht*“, **1997**.

**VCI,** Verband der chemischen Industrie, „*Responsible Care Bericht*“, **1998**.

**Vollhard, K. P. C.,** „*Organische Chemie*“, VCH Weinheim, **1990**, 1065.

**Vollmert, B.,** „*Grundriß der Makromolekularen Chemie*“, E. Vollmert Verlag Karlsruhe, **1979**.

**Vorweg, W.,** „*Überblick zum Forschungsverbund „Modifizierte Stärken“ der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V.*“, **1998**.

**Vorweg, W.,** Loth, F., „*Stärke und Cellulose für neue Anwendungen*“, *Spektrum der Wissenschaft*, **1994**, 107.

**Wagner, N.,** Esser, K. D., Krüger, E., „*Analysis and significance of high-molecular-weight  $\beta$ -glucan in beer*“, *Monatsschr. Brauw.* 41 (10), **1988**, 384.

**Wagner, N.,** He, G., Krüger, E., „*Significance of  $\beta$ -glucan gels for beer filterability*“, *Brauwelt* 12, **1991**, 426.

**Wahlund, K.-G.,** Giddings, J. C., „*Properties of an Asymmetric Flow Field-Flow Fractionation Channel Having One Permeable Wall*“, *Anal. Chem.* 59, **1987**, 1332.

- Wahlund**, K.-G., Winegarner, H. S., Caldwell, K. D., Giddings, J. C., „*Improved Flow Field-Flow Fractionation System Applied to Water-Soluble Polymers: Programming, Outlet Stream Splitting, and Flow Optimization*“, Anal. Chem. 58, **1988**, 573.
- Wahlund**, K.-G., Litzén, A., „*Application of an Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation Channel to the Separation and Characterization of Proteins, Plasmids, Plasmid Fragments, Polysaccharides and Unicellular Algae*“, J. Chromatogr. 461, **1989**, 73.
- Waitzinger**, J., Bepperling, F., Pabst, G., Optiz, J., Müller, M., A., Boldt, J., „*Pharmacokinetics and tolerability of a new hydroxyethyl starch /HES specification [HES 130/0,4] after single-dose infusion of 6 % and 10 % solutions in healthy volunteers.*“, Clin. Drug. Invest. 16 (2), **1998**, 151.
- Waitzinger**, J., Bepperling, F., Pabst, G., Optiz, J., Fackelmeyer, A., Boldt, J., „*Effect of a new hydroxyethyl starch (HES) specification [6% HES 130/0,4] on blood and plasma volume after bleeding in 12 healthy male volunteers.*“, Clin. Drug. Invest. 17 (2), **1999**, 119.
- Weidhase**, R., „*Aufbau, Struktur und biochemische Eigenschaften von kolloidalen Volumenersatzmitteln*“, in: Bernburger Kolloquium, „Symposiumsbericht: 50 Jahre Dextran als kolloidaler Volumenersatz“, Wissenschaftliche Nachrichten und Mitteilungen der Serum-Werke Bernburg AG, Heft 1, **1993/94**.
- Weidler**, B., von Bormann, B., Sommermeyer, K., Lohmann, E., Peil, J., Hempelmann G., „*Pharmakokinetische Merkmale als Kriterien für den klinischen Einsatz von Hydroxyethylstärke*“, Arzneim.-Forsch./Drug Res. 41 (I), **1991**.
- Wiedersheim**, M., „*Oxyethylstarch as a new plasma volume expander in animals*“, Arch. Int. Pharmacodyn. 111, **1957**, 353.
- Williams**, P. S., Giddings, J. C., „*Theory of Filed-Programmed Field-Flow Fractionation with Corrections for Steric Effects*“, Anal. Chem. 66, **1994**, 4215.
- Willmes**, A., „*Hydrophile Polymere: Entwicklung zielt auf Funktionsvielfalt*“, Chemische Rundschau 13, **1998**, 11.

- Wintermantel**, M., Schmidt, M., Becker, A., Dorn, R., Kühn, A., Lösch, R., „*Structure determination of macromolecules with the gel-permeation chromatography*“, Nachr. Chem. Tech. Lab. 40 (3), **1992**, 331.
- Wittgren**, B., Wahlund, K.-G., „*Fast molecular mass and size characterization of polysaccharides using asymmetrical flow field-flow fractionation-multiangle light scattering*“, J. Chrom. A 760, **1997**, 205.
- Wittgren**, B., Borgstrim, J., Piculell, L., Wahlund, K.-G., „*Conformational change and aggregation of  $\kappa$ -carrageenan studies by flow field-flow fractionation and multiangle light scattering*“, Biopolymers 45, **1998**, 85.
- Wolf**, B. A., „*Sortieren von Polymermolekülen nach ihrer Kettenlänge im technischen Maßstab*“, Johannes Gutenberg Universität Forschungsmagazin Sonderausgabe, **1997**, 38.
- Wood**, P. J., Weisz, J., Blackwell, B. A., „*Molecular characterization of cereal  $\beta$ -D-glucans. Structural analysis of oat  $\beta$ -D-glucan and rapid structural evaluation of  $\beta$ -D-glucans from different sources by high performance liquid chromatography of oligosaccharides released by lichenase*“, Cereal Chem. 68, **1991**, 31.
- Woodward**, J. R., Fincher, G. B., „*Purification and chemical properties of two 1,3;1,4- $\beta$ -glucan endohydrolases from germinating barley*“, Eur. J. Biochem. 121, **1982**, 663.
- Woodward**, J. R., Phillips, D. R., Fincher, G. B., „*Water-soluble (1,3),(1,4)- $\beta$ -D-glucans from barley (*Hordeum vulgare*) endosperm. I. Physicochemical properties*“, Carbohydr. Polym. 3, **1983**, 143.
- Woodward**, J. R., Fincher, G. B., Stone, B. A., „*Water-soluble (1,3), (1,4)- $\beta$ -D-glucans from barley (*Hordeum vulgare*) endosperm. II. Fine structure*“, Carbohydr. Polym. 3, **1983**, 207.
- Wyatt Technology**, Produktbroschüre zum DAWN EOS, **1999**.
- Wyatt Technology**, Unterlagen zum Userforum „*GPC-LS-Kopplung: Grundlagen und Praxis*“, **1999**.
- Wyatt**, P. J., Jackson, C., Wyatt, G. K., „*Absolute GPC determinations of molecular weights and sizes from light scattering*“, Am. Lab. 20 (5), **1988**, 88.

**Wyatt, P. J.**, „*Absolute measurement with FFF and light scattering: particles*“, Polym. Mat. Sci. Eng. 65, **1991**, 198.

**Wyatt, P. J.**, „*Light scattering and the absolute characterization of macromolecules*“, Anal. Chim. Acta. 272, **1993**, 1.

**Yamakawa, H.**, „*Modern Theory of Polymersolutions*“, Harpers and Row New York, **1971**.

**Yau, W. W.**, Kirkland, J. J., „*Comparison of Sedimentation Field Flow Fractionation with Chromatographic Methods for Particulate and High-Molecular-Wight Macromolecular Characterization*“, J. Chrom. 218, **1981**, 217.

**Zimm, B. H.**, „*Molecular Theory of the Scattering of Light in Fluids*“, J. Chem. Phys. 13, **1945**, 141.

**Zimm, B. H.**, „*The scattering of light and the radial distribution function of high polymer solutions*“, J. Chem. Phys. 16, **1948**, 1093.

<http://www.inaro.de/Deutsch/ROHSTOFF/industrie/STAERKE/baw.htm>, „*Kunststoffe und biologisch abbaubare Werkstoffe*“, **2001**.

<http://ipcwo36.chemie.uniβminz.de/Internet/Interests/Cpf/>, Wolf, B. A., „*Fractionation of Polymers*“, **2001**.

<http://www.abac.ch/abacglucand.html>, ABAC R&D GmbH, „*ABAC R&D und Glucan*“, **2000**.

<http://www.akadae.de/Homepage/printmed/Mitteilu/Juckreiz.html>, „*UAW-News – International: Hydroxyethylstärke (HES) – Juckreiz*“, Deutsches Ärzteblatt 42, 27.10.2000.

<http://www.allergie-infodienst.de/nah/n0180.html>, „*Nahrungsmittel Guarkernmehl*“, **2001**.

<http://www.chemische-industrie.de>, **Chemische Industrie**, „*Bedeutung nachwachsender Rohstoffe für die Chemie (Stand 1994)*“, **2001**.

<http://www.consultingnet.com.cn/product/guar/guar.htm>, „*Guar gum specification*“, 2001.

<http://www.dainet.de/fnr/de/nr/nrstart.htm>, „*Nachwachsende Rohstoffe – alter Hut auf neuen Köpfen*“, 2001.

<http://www.inaro.de/Deutsch/Rahmenbe/statisti.htm>, „*Statistik*“, 2001.

<http://www.inaro.de/Deutsch/ROHSTOFF/Chemie.htm>, „*Chemische Industrie in Deutschland deckt Rohstoffbedarf zu neun Prozent aus nachwachsenden Rohstoffen*“, 2001.

<http://www.inaro.de/Deutschland/ROHSTOFF/roheuro.htm>, „*Anbau nachwachsender Rohstoffe in Deutschland*“, 2001.

<http://www.mal.usda.gov/ttic/tektran/data/000011/28/0000112889.html>, Christensen, B. E., Ulset, A. S., Beer, M. U., Knucklesbenny, E., Williams, D. L., Fishman Marshall, L., Chau Hoa, K., Wood, P. J., „*Macromolecular Characterization of Three Barley  $\beta$ -Glucan Standards by Size-Exclusion Chromatography combines with Light Scattering and Viscometry: An Interlaboratory Study*“, Agricultural Research Service, 2000.

<http://www.sanat.ch/deutsch/guar.htm>, „*Guar*“, 2001.

<http://www.sbu.ac.uk./water/hygua.html>, „*Guar gum*“, 2001.

[http://www.verbaende.com/news/ges\\_text.php3?m=9189](http://www.verbaende.com/news/ges_text.php3?m=9189), „*Die indischen Geheimwaffen: Mit Büschelbohne und Spitzwegerich gegen erhöhte Blutfette*“, Deutsche Institut für Ernährungsmedizin und Diätetik e.V., 2001.

<http://www.verbraucherministerium.de>, Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, 2000.

[http://www.willy-benecke.com/guar\\_d.htm](http://www.willy-benecke.com/guar_d.htm), Williy Bernecke, Import, Export, Wholesale, „*Guar Gum*“, 2001.



## Lebenslauf

### Persönliches

Name Carola Irmgard Gosch  
Geburtsdatum/ -ort 04. August 1969 in Hamburg  
Familienstand verheiratet

### Schulbildung

8/1976 – 7/1980 Grund- und Hauptschule III Winsen (Luhe)  
8/1980 – 7/1982 Orientierungsstufe II Winsen (Luhe)  
8/1982 – 7/1990 Gymnasium Winsen

### Ausbildung

8/1990 – 6/1993 Chemielaborantin, Deutsche Shell AG

### Studium

9/1993 Mathematik-Vorkurs für Naturwissenschaftler an der Ruhr  
Universität Bochum  
10/1993 Beginn des Chemiestudiums an der Universität Hamburg  
5/1995 Diplomvorprüfung an der Universität Hamburg  
3/1998 Neutronenpraktikum am Forschungszentrum Jülich  
6/1998 Diplomhauptprüfung  
7/1998 – 2/1999 Diplomarbeit am Institut für Angewandte und Anorganische Chemie  
der Universität Hamburg bei Prof. Dr. J. Heck unter Leitung von Dr.  
A. Terfort  
Titel: „Entwicklung eines Syntheseweges für Oligophenylthiole zum  
Einsatz in selbst-organisierten Monoschichten“  
7/1999 – 6/2001 Doktorarbeit am Institut für Technische und Makromolekulare  
Chemie der Universität Hamburg bei Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke  
Titel. „Polymeranalytische Charakterisierung mittels  
Größenausschlußchromatographie, Fluß Feld-Flußfraktionierung und  
Lichtstreuung von Polysaccharid-Derivaten“

**Berufstätigkeit**

- 6/1993 – 8/1993 Chemielaborant bei der Deutschen Shell AG, PAE-Labor Hamburg
- 3/1999 – 6/1999 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Angewandte und  
Anorganische Chemie der Universität Hamburg
- 7/1999 – 6/2001 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Technische und  
Makromolekulare Chemie der Universität Hamburg