# Pfropfung funktioneller Monomere auf Polymermembranen

Dissertation

zur Erlangung des mathematisch-naturwissenschaftlichen Doktorgrades der Georg-August-Universität Göttingen

Vorgelegt von Björn Malte Sölter

aus Braunschweig

Göttingen 2014

# Betreuungsausschuss

**Prof. Dr. Philipp Vana, MBA**, Institut für Physikalische Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

**Prof. Dr. Michael Buback**, Institut für Physikalische Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

# Mitglieder der Prüfungskommission

## Referent

**Prof. Dr. Philipp Vana, MBA**, Institut für Physikalische Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

## Korreferent

**Prof. Dr. Michael Buback**, Institut für Physikalische Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

## Weitere Mitglieder der Prüfungskommission

Jun. Prof. Dr. Ricardo Mata, Institut für Physikalische Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

**Prof. Dr. Guido Clever**, Institut für Anorganische Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

**Prof. Dr. Götz Eckold**, Institut für Physikalische Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

**PD Dr. Thomas Zeuch**, Institut für Physikalische Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

Tag der mündlichen Prüfung: 16.12.2014

# Danksagung

Mein besonderer Dank gilt *Prof. Dr. Vana* für die Ermöglichung dieser hochinteressanten Arbeit und die hilfreichen Diskussionen zu diesem komplexen Thema. *Prof. Dr, Buback* möchte ich meinen Dank aussprechen für die Übernahme des Korreferats. Großer Dank gilt auch der Firma Sartorius Stedim Biotech für die Finanzierung und insbesondere *Dr. Louis Villain* für wichtige Diskussionen und Informationen.

Ich danke *Jan Schwellenbach*, ebenfalls für sehr produktive Diskussionen und außerdem für die Hilfe bei der Messung der Dynamischen Kapazitäten. *Philipp Schröder*, der während seiner Bachelorarbeit viele wichtige Daten generiert hat, danke ich ebenso wie *Dr. Florian Taft* und *Dr. Hans-Heinrich Hörl*.

Darüber hinaus danke ich allen Mitgliedern der Arbeitskreise *Makromolekulare Chemie* und *Technische und Makromolekulare Chemie* für eine schöne Zeit in einem sehr guten Arbeitsklima.

Persönlich möchte ich noch *Rosanna Köhler, Kathrin Gerlach, Konni Kuper* und *Toni Schreiber* sowie *Rouven Henkel, Jan-Hendrik Schütz, Michael Hendrich* und *Sebastian Primpke* danken, die immer wieder für wissenschaftliche, ernsthafte und unterhaltsame Diskussionen da waren.

Ganz besonders dankbar bin ich auch meinen Eltern, die mich mein ganzes Studium, auch in schwereren Zeiten, immer sehr unterstützt und mir Mut gemacht haben. Zuletzt möchte ich noch meiner Freundin Nicole danken, die trotz viel eigener Arbeit immer für mich da war und mir grade in stressigen Zeiten sehr viel geholfen und mich entlastet hat.

# INHALT

1	Zu	Zusammenfassung			
2	Summary				
3	Eiı	Einleitung und Zielsetzung			
4	Th	7			
	4.1	Grundlagen der Polymermembranen und Membranadsorber	7		
	4.2	Radikalische Polymerisation auf Oberflächen	17		
	4.3	Die Atom-Transfer radikalische Polymerisation (ATRP)	26		
	4.4	Charakterisierung von oberflächengebundenen Polymeren	29		
5	Au	fklärung der Cer basierten Pfropfung auf mikroporösen Oberflächen			
	5.1	Herstellung von gepfropften Membranen			
	5.2	Charakterisierung der Pfropfschicht	35		
	5.3	Der Einfluss der Emulsion auf die Membraneigenschaften	57		
6	Design der Hydrogelschicht durch ATRP		64		
	6.1	Einfluss der Initiatordichte auf die Eigenschaften des Hydrogels	64		
	6.2	Einfluss der Kettenlänge auf die Eigenschaften des Hydrogels	80		
7	Di	e Bindung von Biomolekülen an Polymerfilmen	91		
	7.1	Entwicklung eines Bindungsmodells für Proteine an Oberflächen	91		
	7.2	Vergleich der ATRP-gepfropften Membranen mit der Standardmembran	98		
8	Fa	zit	108		
9	Au	sblick	110		
1	0	Materialien und Methoden	113		
	10.1	Verwendete Chemikalien	113		
	10.2	Pfropfung auf Cellulose	113		
	10.3	Reaktion mit ( <i>tert</i> -Butoxymethyl)oxiran	114		
	10.4	Atom Transfer radikalische Polymerisation auf Membranen	114		
	10.5	Sulfonierung des Pfropfpolymers <sup>13</sup>	116		
	10.6	Untersuchung der Emulsion	117		
	10.7	Analytik der Funktionalisierten Membran	117		

10.8	Zersetzung der gepfropften Membran	121
10.9	Bestimmung der Dichte an oberflächengebundenem Initiator	122
10.10	) AFM-Untersuchungen	125
10.11	REM-Untersuchungen	125
10.12	2 GPC-Untersuchungen	125
10.13	3 NMR-Untersuchungen	126
10.14	ESI-MS Untersuchungen	126
10.15	5 Messung der dynamischen Kapazität	127
11 <i>I</i>	Abkürzungsverzeichnis	128
12	Abbildungen	129
13 9	Schemata	131
14 I	Literaturverzeichnis	132
15 <i>I</i>	Anhang	137

# **1** ZUSAMMENFASSUNG

Kommerziell erhältliche Ionenaustauscher basieren häufig auf funktionalisierten Cellulosemembranen, die mit Cer<sup>IV</sup> und Glycidylmethacrylat (GMA) gepfropft und anschließend sulfoniert werden.

Die Untersuchung dieser Polymerisation zeigte, dass während der Pfropfung eine Vernetzung des Polymers über die Epoxidfunktion des Monomers auftritt. Daher konnte keine direkte Analyse des entstandenen Hydrogels durchgeführt werden und es wurde stattdessen Methylmethacrylat (MMA) auf der Oberfläche polymerisiert. Nach Entwicklung eines geeigneten Verfahrens zur Zersetzung der Membranen und Isolierung des Pfropfpolymers konnte dieses mit Gel-Permeations-Chromatographie (GPC) analysiert werden. Zusätzlich wurden Polymerisationen auf nicht-porösem Cellophan durchgeführt und die erhaltenen Proben mittels Rasterkraftmikroskopie (*Atomic Force Microscopy*, AFM) untersucht.

Die Ergebnisse zeigen, dass das gepfropfte PMMA einen Polymerisationsgrad von 2100 und eine Dichte von 0,45 Ketten pro nm<sup>2</sup> auf der Oberfläche hat. Wird die gleiche Anzahl an Polymeren auch für Pfropfung mit PGMA angenommen und mit dem Pfropfgrad verglichen, ergibt sich damit unter Vernachlässigung der Vernetzung ein Polymerisationsgrad von etwa 800.

Es konnte gezeigt werden, dass die für die Pfropfung verwendete Emulsion unter anderem aus Tröpfchen besteht, deren Größe mit der der Poren der Membran übereinstimmt. Dennoch treten bei der Polymerisation keine Ausschlusseffekte auf und die Größenverteilung der Emulsionspartikel stellt sich auch nach Filtration zügig wieder ein.

Zusätzlich wurde eine Methode der Atom-Transfer radikalischen Polymerisation (ATRP) auf mikroporösen Membranen entwickelt und eingesetzt, um gezielt bestimmte Eigenschaften des Hydrogels zu variieren. Bei Versuchen mit MMA wurde der reversibel deaktivierte Charakter unter den verwendeten Bedingungen untersucht und nachgewiesen.

Die verwendete Methode erlaubt, die Kettenanzahl und –länge separat voneinander einzustellen, sodass der Einfluss dieser Größen auf die Eigenschaften des resultierenden Membranadsorbers gezielt untersucht werden konnte. Es zeigte sich, dass die Dichte der Ketten einen komplexen Einfluss sowohl auf die Permeabilität als auch auf die Bindungskapazität des Ionentauschers hat. Der Einfluss der Kettenlänge ist dagegen weniger subtil und entspricht den Erwartungen.

Aus den gewonnenen Daten wurde ein Modell für die Bindung von Proteinen an der gepfropften Oberfläche des Austauschers entwickelt und daraus die Kettenlänge und –dichte des Hydrogels abgeschätzt und mit alternativen Methoden verglichen.

# 2 SUMMARY

The grafting of glycidyl methacrylate (GMA) on microporous cellulose membranes using cerium<sup>IV</sup> was investigated. The grafted polymer was sulfonated to be used for ion exchange.

It was shown that during the grafting of GMA a crosslinking reaction of the epoxide occurred. Thus, no direct analysis of the hydrogel was possible. Instead methyl methacrylate (MMA) was polymerized from the surface. After development of suitable methods for decomposition of the membrane and isolation of the grafted polymer it was analyzed with Gel Permeation Chromatography (GPC). Additionally, grafting of non-porous cellophane was conducted and the obtained samples were used for Atomic Force Microscopy (AFM).

Results showed a degree of polymerization for grafted MMA of 2100 and a chain density of 0,45 chains per nm<sup>2</sup>, which transferred to GMA results in a degree of polymerization of about 800.

It was demonstrated that the emulsion used during grafting consisted of particles of roughly the same size as the pores of the membrane, but no size-exclusion effects were determined and after filtration a quick regeneration of the size distribution of emulsion particles was observed.

Furthermore, methods for Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP) on microporous membranes were developed and used to specifically modify certain aspects of the grafted hydrogel. Experiments with MMA showed the reversible deactivated character of the polymerization under these conditions.

This method allows for separate adjustment of chain density and length, thus making an investigation of their influence on the ion exchange characteristics of the membranes possible. It was shown that chain length has a rather simple affect on permeability as well as binding capacity but chain density has a more complicated influence on both.

From all findings a model of protein binding on the grafted membrane surface was developed and used to estimate chain lengths and densities.

# **3** EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

In vielen biotechnologischen Prozessen müssen bestimmte Moleküle wie beispielsweise Antikörper, Impfstoffe oder Viren, die teilweise nur in geringer Konzentration vorhanden sind, hochrein isoliert werden.<sup>1-4</sup> Einige Techniken, um diese Auftrennung zu erreichen, sind die Trennung durch Zentrifugation, welche allerdings sehr aufwendige Apparaturen vorausetzt,<sup>5</sup> oder die Trennung durch Größenausschluss, wofür jedoch große Lösungsmittelmengen benötigt werden und nur niedrige Konzentrationen eingesetzt werden können.<sup>6</sup>

Ein weniger aufwendiges, aber sehr effektives Standardverfahren ist die Verwendung von Ionenaustauschern, bei welchen die Auftrennung der Moleküle nach ihrer Ladung, beziehungsweise nach ihrem isoelektrischen Punkt, erfolgt.<sup>7</sup> Der Austauscher bindet dabei Partikel mit ihm entgegengesetzter Ladung, wohingegen alle Teilchen gleicher Ladung oder neutrale Moleküle ungehindert passieren können. In einem folgenden Schritt wird dann der pH-Wert oder die Leitfähigkeit des Mediums geändert, um die zurückgehaltenen Moleküle wieder freizugeben. Ionenaustauscher werden seit Mitte des 20. Jahrhunderts eingesetzt und sind an drei Vierteln aller Aufreinigungen in industriellen biotechnologischen Prozessen beteiligt.<sup>8</sup> Klassisch werden sie in Form von Säulen, gefüllt mit modifizierten Harzen (engl. Beads oder Resins), verwendet. Eine Alternative dazu bieten Membranen, die inzwischen in Biotechnologieunternehmen weit verbreitet sind.

Die verwendeten Chromatographiesysteme werden dabei, unabhängig von der Art des Aufbaus, charakterisiert von zwei wichtigen Eigenschaften: der Bindungskapazität, also der Menge an Substanz, die gebunden werden kann, und der Permeabilität, dem Inversen des Flusswiderstands für eine Lösung beim Durchströmen des Systems.

Die klassischen Gelsäulen zeichnen sich durch sehr hohe Kapazitäten aus, sie können also besonders viel einer Substanz binden, bevor sie ausgetauscht oder gereinigt werden müssen. Allerdings leidet diese Fähigkeit, wenn das zu behandelnde Medium mit zu hoher Flussrate zugeführt wird, sodass nur geringe Durchsätze erreicht werden können. Um dennoch viel Substanz schnell aufreinigen zu können, werden die teuren Säulen daher häufig größer ausgelegt als eigentlich nötig. Es wird dann zwar nur ein Bruchteil der Kapazität genutzt, aber es können akzeptable Flussraten erreicht werden. können.

Dieses Problem kann durch die Verwendung von Membranen vermieden werden.<sup>9</sup> Ihre Bindungskapazitäten sind in der Regel etwas geringer als die einer Säule, sie können aber bei erheblich höheren Flussraten verwendet werden. Bei Säulen beginnt bei höheren Strömungsgeschwindigkeiten schnell ein Durchbruch des zu trennenden Materials durch das chromatographische Medium, sodass die Effektivität leidet. Dieser Effekt tritt bei Membranen deutlich weniger auf, sodass sie sich wesentlich besser für die großtechnische Entfernung von Kontaminanten im Flow-Through-Betrieb eignen.

Die bei niedrigen Flussraten schlechtere Kapazität einer Membran lässt sich teilweise durch Verwendung eines Pfropfpolymers kompensieren. Dabei wird ein Polymerfilm auf die Oberfläche aufgebracht, wodurch mehr Bindungsstellen zur Verfügung stehen. Dies wird allerdings erkauft mit einer Abnahme der Permeabilität der Membran, also dem Widerstand, den sie einem strömenden Medium entgegensetzt. Der Grund hierfür ist eine Verengung der Porenstruktur, zum einen direkt durch das Polymer, zum anderen durch ein Quellen der Membran. Polymere mit vielen geladenen Gruppen bewirken eine Abstoßung der gepfropften Ketten, wodurch sich das Polymervolumen erhöht. Dies verringert den Porenradius der Membran und der Flusswiderstand nimmt zu.

Die Struktur eines solchen Polymerfilms ist allerdings nicht bekannt. Da sich der größte Teil des Hydrogels nicht an der Oberfläche des porösen Materials befindet, entzieht es sich vielen üblichen Techniken der Oberflächenanalytik. Zudem erlauben die bisher hauptsächlich angewendeten Techniken keine oder nur wenig Steuerung der Eigenschaften des oberflächengebundenen Polymers.

In der vorliegenden Arbeit sollte eine Cer-gepfropfte Membran untersucht werden, um den verwendeten Pfropfprozess aufzuklären und die Polymerstruktur zu beschreiben. Die Verwendung von Cellulosemembranen und die Polymerisation mittels Initiierung mit Cer-Salzen sind weit verbreitet aber wenig verstanden. Dadurch sind die hier gewonnenen Einsichten weit über diesen direkten Anwendungsbereich hinaus von Bedeutung. Das verwendete Glycidylmethacrylat (GMA) ist ein sehr vielseitiges Monomer, das dank seiner Epoxid-Funktion für eine Vielzahl von Anwendungsgebieten in Betracht kommt, sodass es für unterschiedlichste Produkte genutzt werden kann.

Mit der Atom-Transfer radikalischen Polymerisation wurde zudem eine moderne Polymerisationsmethode auf Membranen entwickelt und angewandt. Durch die einzigartigen Möglichkeiten der reversibel deaktivierten Polymerisation konnten die Polymereigenschaften gezielt eingestellt und ihr Einfluss auf das Trennverhalten der Membran untersucht werden.

Zusätzlich wurden die Mechanismen der Proteinbindung an Polyelektrolyte anhand der Membranadsorber untersucht. Ein besseres Verständnis der zugrunde liegenden Prinzipien könnte neue Wege eröffnen, effektivere und selektivere Trennschritte zu konzipieren und so die Herstellung biotechnologischer Produkte zu vereinfachen.

# 4 THEORETISCHE GRUNDLAGEN

In diesem Kapitel werden die theoretischen Grundlagen der verwendeten Reaktionen und Methoden vorgestellt. Dies sind insbesondere die allgemeinen Mechanismen der radikalischen Polymerisation, der ATR-Polymerisation sowie die den Membranen und ihren Eigenschaften zugrunde liegenden Prinzipien.

## 4.1 GRUNDLAGEN DER POLYMERMEMBRANEN UND MEMBRANADSORBER

Die Verwendung von Membranen für die Aufreinigung von Lösungen bietet gegenüber anderen Techniken entscheidende Vorteile. Verglichen mit beispielsweise Zentrifugation, welche flexibel, aber gleichzeitig im Aufbau sehr teuer ist, können Membranen problemlos als Einweg-Produkte verwendet werden. Sie sind daher in der Anschaffung erheblich günstiger und können neuen Prozessen entsprechend leicht skaliert werden. Außerdem entfällt eine aufwendige Reinigung, die aufgrund der hohen Reinheitsanforderungen ein nicht zu unterschätzender Zeit- und Kostenfaktor ist.

Gegenüber Gelsäulen haben Membranen ebenfalls mehrere entscheidende Vorteile. Sie benötigen im Betrieb weniger Lösungsmittel und können vom Volumen her erheblich kleiner ausgelegt werden und trotzdem gleiche Kapazitäten erreichen. Der größte Vorteil allerdings ist die Möglichkeit, Membranadsorber bei wesentlich höheren Flussraten zu betreiben. Um bei einer Gelsäule ein großes Volumen aufzureinigen, muss die Säule entsprechend groß skaliert werden. Eine einfache Erhöhung der Flussrate führt zu einem Einbruch der Bindungskapazität und somit zu einem Verlust an Produkt. Bei Membranen dagegen ist die dynamische Bindungskapazität praktisch unabhängig vom angelegten Volumenstrom, sodass bei hohen Durchsatzraten Membranen eindeutig im Vorteil sind.

Die Ursache dieses Phänomens ist die unterschiedliche Zugänglichkeit der Porenstruktur. Bei Gelpartikeln wird durch die angelegte Strömung konvektiv nur die äußere Fläche der Partikel erreicht, wie in Abbildung 1 gezeigt. Das Innere der Porenstruktur ist nur über die langsamere Porendiffusion zugänglich. Ist die Flussrate zu hoch, ist die mittlere Verweildauer eines Teilchens in der Nähe einer Pore nicht lang genug, um ein Eindringen zu erlauben. Damit verringert sich die für Wechselwirkungen zur Verfügung stehende Oberfläche stark. Bei Membranen dagegen wird das Medium durch die Porenstruktur hindurch geleitet, sodass keine Porendiffusion nötig ist. Neben dem konvektiven Stofftransport tritt hier nur noch die Filmdiffusion auf, die die Grenzfläche zwischen Porenoberfläche und strömendem Medium überbrückt. Als Folge davon ist eine Interaktion praktisch immer mit der gleichen Fläche möglich und das Bindungsverhalten annähernd unabhängig von der Flussrate, wie in Abbildung 2 skizziert.



Abbildung 1: Vergleich der Strömungsbedingungen an Gelpartikeln (links) und Membranen (rechts). Bei Gelpartikeln steht eine größere Oberfläche zur Verfügung, die allerdings nur über Porendiffusion zu erreichen ist. Ist die Strömungsgeschwindigkeit des Mediums zu hoch, findet nur wenig Diffusion in die Poren statt und die Kapazität nimmt ab. Bei durchströmten Membranen dagegen bleibt die gesamte Oberfläche zugänglich.



Abbildung 2: Aus Abbildung 1 resultierender Verlauf der Bindungskapazitäten mit der Fließgeschwindigkeit des Mediums. Großtechnische Prozesse werden in der Regel aufgrund hoher Volumina bei hohen Fließgeschwindigkeiten gefahren, sodass Membranen häufig überlegene Eigenschaften haben.

Ein weiterer Vorteil der Verwendung von Membranen ist, dass sie leicht dem Bedarf entsprechend skaliert werden können. Um einen gleichmäßigen Fluss zu erhalten und damit eine gleichmäßige Elution des Produktes, sollten Gelsäulen möglichst schmal gehalten werden. Um eine ausreichende Trennung zu erreichen, müssen sie teilweise sehr lang sein und verbrauchen entsprechend viel Zeit und Lösungsmittel im Betrieb. Die Größe einer Membran dagegen kann in der Anströmfläche beliebig erweitert werden, um größere Probenmengen in kürzerer Zeit zu bewältigen, ohne dabei an Trenneffektivität zu verlieren.

Zur Herstellung von Membranen existieren zwei etablierte Methoden, der Verdunstungsprozess und der Fällbadprozess. Bei der Verdunstung wird ein Polymer in einem Lösungsmittel gelöst. Diese Lösung wird dann auf eine glatte Oberfläche aufgetragen und das Lösungsmittel verdampft. Bei ausreichender Konzentration und Menge der Lösung entsteht dabei ein durchgängiger Polymerfilm, eine Membran. Werden geeignete Bedingungen gewählt, zum Beispiel in Bezug auf das Lösungsmittel, die Temperatur und den Druck, kann dabei eine relativ homogene Porenstruktur gebildet werden. Alternativ wird häufig der Fällbadprozess genutzt. Dabei wird die Polymerlösung ebenfalls auf eine glatte Oberfläche gegeben, die in ein Nicht-Lösungsmittel des Polymers getaucht wird. Bei der Durchmischung der beiden flüssigen Phasen beginnt das Polymer auszufallen und bildet dabei eine gyroide Struktur aus.



Abbildung 3: Großtechnische Methoden der Membranherstellung: Herstellung durch Verdunstung; die Polymerlösung wird auf das Vlies aufgetragen, durch Verdunstung des Lösungsmittels entsteht die poröse Struktur.



Abbildung 4: Großtechnische Methoden der Membranherstellung: Herstellung im Fällbad; das aufgetragene Polymer wird durch ein Nicht-Lösungsmittel gefällt und bildet die poröse Struktur.

Die große Mehrheit der heute zu Chromatographiezwecken hergestellten Membranen weist eine asymmetrische Struktur auf (Abbildung 5). Indem die engporige obere Schicht möglichst schmal gehalten wird, kann trotz guter Trenneigenschaften eine hohe Permeabilität der Membran erreicht werden. Die dicke, gröber werdende Schicht verleiht der Membran dagegen eine höhere mechanische Stabilität, ohne die Permeabilität zu reduzieren. Allerdings ist die Asymmetrie der in dieser Arbeit verwendeten Membranen weniger stark ausgeprägt als in der Abbildung dargestellt.



Abbildung 5: Querschnitt einer asymmetrischen Polyethersulfon-Membran. Die Trennung erfolgt in der feinporigen Schicht. Da diese dünn ist, kann eine hohe Permeabilität erreicht werden. Die gröbere Schicht hat keinen direkten Einfluss auf Trennung oder Permeabilität, erhöht aber die mechanische Stabilität der Membran. (Mit freundlicher Genehmigung von Sartorius Stedim Biotech S.A.)

Häufig sind Polymermembranen dennoch leicht brüchig und daher ungeeignet, um direkt eingesetzt zu werden. Daher werden beim Herstellungsprozess Polyester-Vliese zur Verbesserung der mechanischen Stabilität eingesetzt. Sie dienen als Unterlage und nehmen die Polymerlösung auf, sodass sie nach dem Fällen oder dem Verdunsten des Lösungsmittels vollständig von dem Polymer umschlossen sind. Sie selbst sind jedoch relativ inert, sodass sie im Folgenden nicht weiter berücksichtig werden.

Ein häufig genutztes Membranmaterial ist Cellulose. Sie bietet den Vorteil, dass sie in der Herstellung und Entsorgung ökologisch unbedenklich ist. Außerdem ist sie als Cellulose-Acetat gut löslich in organischen Medien, was für die Membranherstellung von großer Bedeutung ist. Gleichzeitig kann sie leicht durch Hydrolyse wieder in die nicht-acetylierte, sogenannte regenerierte Form überführt werden. Gewöhnliche Cellulose ist ein nur unter sehr speziellen Bedingungen lösliches Material, sodass die Membran nach der Regenerierung lösungsmittelstabil ist. Allerdings bleibt sie empfindlich gegen Basen. Dies ist ein erheblicher Nachteil, da in biotechnologischen Prozessen häufig durch Spülen mit Natronlauge gereinigt wird, um alle Rückstände, wie DNA-Fragmente oder HCPs, zu entfernen und unschädlich zu machen. Um die Stabilität der Membran weiter zu erhöhen, werden nach der Herstellung und Regeneration der Membran Vernetzer zugegeben, wie 1,2,6,7-Diepoxyheptan<sup>10</sup> oder 1,3-Bis(hydroxymethyl)imidazolidin-2-on,<sup>11</sup> wodurch sie mehrfache Reinigungszyklen mit 1 M NaOH übersteht.

1,2,6,7-Diepoxyheptan

1,3-Bis(hydroxymethyl)imidazolidin-2-on

Schema 1: Beispiele für Vernetzungsreagenzien in der Herstellung von Cellulosemembranen.

Eine so regenerierte und vernetzte Membran kann nun dank ihrer Porenstruktur als Filter eingesetzt werden, je nach Porengröße zur Ultra- Mikro- oder Partikelfiltration, wie in Abbildung 6 dargestellt.



Abbildung 6: Einteilung der Filtrationsarten nach Porengröße und Beispiele für Zielpartikel.

Eine solche auf Größenausschluss basierende Aufreinigung ist ein wichtiger Teil eines biotechnologischen Prozesses, da auf diese Weise Verunreinigungen wie Viren praktisch vollständig entfernt werden können. Für manche Schritte ist diese Aufreinigung jedoch nicht geeignet, beispielsweise wenn Proteine ähnlicher Größe voneinander getrennt werden sollen. In diesem Fall wird häufig auf Ionenaustauscher zurückgegriffen. Dabei wird der isoelektrische Punkt des Proteins oder der Zielverbindung ausgenutzt. Durch geschickte Wahl von pH-Wert und Leitfähigkeit kann erreicht werden, dass entweder nur Verunreinigungen (Flow-Through-Modus) oder fast ausschließlich die Zielmoleküle (Bind&Elute-Modus) gebunden werden. Im zweiten Fall können Verunreinigungen dann aus dem Austauscher gespült werden, während die Zielverbindung zurückgehalten wird und erst in einem späteren Schritt beispielsweise durch eine Salzlösung eluiert wird.

Je nachdem, ob ein Anionen- oder Kationentauscher benötigt wird, werden dabei unterschiedliche funktionelle Gruppen eingesetzt. Im Falle eines Anionentauschers sind dies in der Regel tertiäre oder quartäre Amine und für Kationentauscher Carbon- oder Sulfonsäuren. Was jeweils verwendet wird hängt davon ab, ob eine stark oder schwach geladene Oberfläche angestrebt wird.



Schema 2: Beispiele für typische Liganden. Von links nach rechts: quartäres Amin, für stark positiv geladene Austauscher; tertiäres Amin, schwach positiv; Carbonsäure, schwach negativ und Sulfonsäure, stark negativ.



Abbildung 7: Funktionsweise eines Ionenaustauschers am Beispiel eines Kationentauschers. Beim Beladen wird die positiv geladene Zielverbindung gebunden und verdrängt die Natriumionen. Negativ geladene Verunreinigungen werden nicht gebunden. Beim Waschen werden etwaige ungebundene Verunreinigungen entfernt. Bei Zugabe eines Überschusses an Natriumionen verdrängen diese die Zielverbindung, die anschließend aufgefangen wird.

Die regulär auftretenden Verunreinigungen wie Endotoxine, DNA-Fragmente, Host-Cell-Proteine (HCP) oder Viren haben meist relativ niedrige isoelektrische Punkte, sie sind im Bereich von pH 7 also negativ geladen. Monoklonale Antikörper (monoclonal Antibodies, mABS), eine typische Klasse von Zielverbindungen, haben dagegen höhere isoelektrische Punkte und sind in diesem pH-Bereich positiv geladen. Zur Aufreinigung von mABS bietet es sich also an, zuerst mit einem positiv geladenen Anionentauscher die Verunreinigungen zu entfernen und danach mit einem negativ geladenen Kationentauscher die Zielverbindung zu isolieren.



Abbildung 8: Isoelektrische Punkte typischer biologischer Komponenten. Die Verunreinigungen weisen meist einen niedrigeren isoelektrischen Punkt auf als Zielverbindungen wie mABS, sodass diese durch Ionenaustausch gut isoliert werden können.

Je größer die spezifische Oberfläche der Membran dabei ist, desto mehr Substanz kann gebunden werden. Um möglichst hohe Kapazitäten zu erreichen, müssen also möglichst kleine, dafür viele Poren mit großer Oberfläche vorhanden sein. Kleine Porendurchmesser erhöhen allerdings den Strömungswiderstand, sodass bei gleicher Zeit weniger Probenvolumen umgesetzt werden kann. Dieser Inverse Zusammenhang – Erhöhung der Kapazität führt zu Verringerung des Flusses – muss bei der Entwicklung von Membranadsorbern immer berücksichtigt werden.



Permeabilitat

Abbildung 9: Darstellung des grundsätzlichen Zusammenhangs von Bindungskapazität und Permeabilität. Eine Erhöhung des einen ist nur auf Kosten des anderen zu erreichen. Gesucht werden neue Technologien, die eine gleichzeitige Verbesserung erlauben, dargestellt durch eine Verschiebung der blauen zur roten Kurve.

Um insgesamt günstigere Verhältnisse von Kapazität und Permeabilität zu erreichen, wird die Membranoberfläche üblicherweise nicht direkt funktionalisiert, sondern es werden Polymere auf die Membranoberfläche aufgebracht und funktionalisiert. Dadurch kann bei gleicher Permeabilität eine wesentlich größere Anzahl an Bindungsstellen und damit eine höhere Kapazität erreicht werden.



Abbildung 10: Vergleich von direkter Oberflächenfunktionalisierung (oben) und Funktionalisierung mit Polymer (unten). Das Polymer erlaubt eine wesentlich höhere Ladungsdichte, verengt allerdings die Poren stärker.

Wie bereits oben erwähnt, werden Membranen charakterisiert durch ihre Permeabilität und ihre Kapazität. Die Permeabilität  $P_i$  ist dabei das Verhältnis des Volumenstroms  $J_i$  der Lösung zur Membrandicke d und dem Transmembrandruck p:

$$P_i = \frac{J_i}{d \cdot p} \tag{1}$$

Der Volumenstrom  $J_i$  setzt sich zusammen aus der Menge an Substanz (hier als Volumen)  $V_i$ , der durchströmten Fläche  $A_a$ , die hier der Anströmfläche der Membran entspricht, und der benötigten Zeit *t*:

$$J_i = \frac{V_i}{A_a \cdot t} \tag{2}$$

Bei der Verwendung mehrerer Membranen übereinander ist die Membrandicke ein relevanter Parameter, insbesondere dann, wenn ein Membranmodul mit einer Säule verglichen werden soll, da hierfür die gleichen Formeln gelten. Bei der Betrachtung einzelner Membranschichten ist es aber meist zweckmäßiger, die Membrandicke zu vernachlässigen, sodass sich unter Berücksichtigung von (2) für den Membranfluss vunter Verwendung üblicher Einheiten ergibt:

$$\nu / \text{mLmin}^{-1} \text{bar}^{-1} \text{cm}^{-2} = \frac{V}{t \cdot p \cdot A_a}$$
 (3)

Die statische bzw. 100 % Bindungskapazität (oder einfach Bindung C) ist definiert als die Menge m einer Substanz, die reversibel pro Membranvolumen gebunden werden kann:

$$C = \frac{m}{V_{\text{Mem}}} \tag{4}$$

Analog zum Membranfluss wird auch die Kapazität bei einzelnen Schichten sinnvollerweise auf die Anströmfläche  $A_a$  bezogen.

$$c \,/\,\mathrm{mg}\,\mathrm{cm}^{-2} = \frac{m}{A_{\mathrm{a}}} \tag{5}$$

Die statische Bindung gibt dabei die gesamte Menge an Substanz an, die bei großem Überschuss an Produkt und ohne Limitierung durch Diffusion gebunden werden kann. Dieser Wert ist relevant für die Charakterisierung einer Membran, für die Anwendung ist er allerdings eher unbedeutend, da die Zielverbindungen, wie beispielsweise bestimmte Proteine, sehr wertvoll sind und deswegen vollständig isoliert werden sollen. Der nichtgebundene Überschuss an Produkt geht hier aber verloren. Daher wird neben der statischen Bindung auch die dynamische Bindung verwendet. Dabei wird berücksichtigt, dass schon vor Ausschöpfung der statischen Kapazität Zielsubstanz durch den Absorber gelangen kann, wenn die Membran beladen wird. Bestimmt wird meist die Kapazität bei 10 % Durchbruch, also der Kapazität, die gebunden wird, bevor die Konzentration nach dem Austauscher auf 10 % der Ausgangskonzentration ansteigt. Die Bestimmung erfolgt dabei meist durch UV/Vis-Detektoren.

In Abbildung 11 ist ein schematischer Verlauf des Detektorsignals hinter der Membran gezeigt. Die Kapazität errechnet sich aus der Fläche zwischen dem Beginn der Beladung und dem Erreichen von 10 % Durchbruch und der eingesetzten Konzentration.



Abbildung 11: Prinzipieller Verlauf des Detektorsignals bei der Beladung einer Membran. Die rot unterlegte Fläche entspricht der Kapazität bis 10 % Durchbruch, die gepunktete der bei 100 % beziehungsweise der statischen Kapazität.

Je steiler der Verlauf der Durchbruchskurve ist und je abrupter der Anstieg einsetzt, desto größer ist die dynamische Kapazität im Vergleich zu der statischen. Um Substanzverlust zu vermeiden, werden sowohl Membranadsorber als auch Säulen normalerweise nicht bis zu ihrer statischen Kapazität beladen, sondern bereits deutlich früher ausgetauscht oder wieder eluiert, teilweise sogar noch vor Erreichen ihrer dynamischen Kapazität bei 10 % Durchbruch.

Neben der Proteinkapazität kann auch eine Bindungskapazität für einfache anorganische Ionen definiert werden. Dies hat den Vorteil, dass eine direkte Bestimmung aller Bindungsstellen einer Membran möglich wird, da näherungsweise jede Bindungsstelle genau ein Ion binden sollte. Zweckmäßigerweise wird die Kapazität in diesem Fall nicht in mg cm<sup>-2</sup>, sondern in µmol cm<sup>-2</sup> angegeben.

## 4.2 RADIKALISCHE POLYMERISATION AUF OBERFLÄCHEN

Die Funktionalisierung der Membran erfolgte meist durch eine radikalische Polymerisation auf der Cellulose. Eine Polymerisation ist eine Reaktion, bei der aus vielen Einzelmolekülen, den Monomeren, sehr lange Molekülketten, die Polymere, entstehen. Hier können unterschiedliche Reaktionsarten unterschieden werden, beispielsweise die ionische Polymerisation oder die metallkatalysierte Polymerisation. Eine der am häufigsten verwendeten Polymerisationsarten ist dabei die radikalische Polymerisation, wie in Schema 3 dargestellt.

Hierbei wird eine Bindung in einem Initiatormolekül homolytisch gespalten, wodurch Radikale erzeugt werden. Ein solches Radikal kann nun eine Polymerisation initiieren, indem die Doppelbindung eines geeigneten Monomers angegriffen wird, was zur Bildung einer neuen Bindung zwischen Initiatorfragment und Monomer führt. Gleichzeitig wird die Radikalfunktionalität auf das Monomer übertragen, sodass dieses eine weitere Doppelbindung angreifen kann, was zu einer Kettenreaktion führt, die als Propagation bezeichnet wird. Die Anzahl an Monomereinheiten, die in einer Kette vorhanden sind, wird dabei auch als Polymerisationsgrad bezeichnet.



Schema 3: Radikalische Polymerisation mit Initiatorfragment I, Polymer der Kettenlänge i P<sub>i</sub> und Monomer M.

Treffen zwei wachsende Polymerketten aufeinander, kann es zu einer Terminierung kommen. Hierbei können zwei unterschiedliche Mechanismen auftreten, die Kombination und die Disproportionierung. Bei der Kombination bilden die zwei aufeinander treffenden Radikale eine neue Bindung aus, sodass ein Polymer entsteht, dessen Masse der Summe beider Ketten entspricht. Bei der Disproportionierung dagegen abstrahiert eine der Ketten ein Atom oder eine Gruppe der anderen, üblicherweise ein Wasserstoffatom. Dabei wird ein Elektron übertragen, wodurch die erste Kette gesättigt ist und sich bei der zweiten nun zwei Radikale in direkter Nachbarschaft befinden und eine  $\pi$ -Bindung aufbauen. Dadurch können beide Ketten kein weiteres Monomer anlagern und die Polymerisation endet. Da die beteiligten Radikalspezies sehr reaktiv sind, ist die Lebensdauer einer solchen Polymerkette sehr gering und endet häufig bereits nach ungefähr einer Sekunde oder weniger.<sup>14</sup>

Im Gegensatz zu niedermolekularen Verbindungen und vielen Biomolekülen haben so hergestellte Polymere keine exakt definierte Molmasse, sondern weisen eine Verteilung auf. Neben den beschriebenen unterschiedlichen Abbruchmechanismen ist dies hauptsächlich auf die statistische Verteilung der unterschiedlichen Schritte – Initiierung, Wachstum, Terminierung – zurückzuführen. Somit können unterschiedlich viele Monomere an eine wachsende Kette addieren, bevor ein Abbruch erfolgt. Um dieser Eigenschaft Rechnung zu tragen, werden für Polymere daher keine Molmassen *M*, sondern unterschiedlich gemittelte Massen  $\overline{M}$  angegeben. Die am häufigsten verwendeten sind dabei das einfache Zahlenmittel  $\overline{M}_n$  und das molmassengewichtete Mittel  $\overline{M}_w$ . Da bei letzterem größere Ketten stärker gewichtet werden als kleinere, verschiebt sich das Mittel zu höheren Massen und es gilt:

$$\bar{M}_{\rm w} \ge \bar{M}_{\rm n} \tag{6}$$

Das Verhältnis beider Werte erlaubt nun eine Aussage über die Breite der Massenverteilung und wird Dispersität D genannt.

$$D = \frac{M_{\rm w}}{M_{\rm n}} \tag{7}$$

Für nicht-disperse Spezies wie niedermolekulare Verbindungen oder Proteine ist  $\overline{M}_{w}$  und  $\overline{M}_{n}$  identisch und damit  $\mathcal{D}$  gleich eins, für viele polymerisierte Systeme liegt  $\mathcal{D}$  dagegen bei etwa zwei.<sup>15</sup> Die Molmassenverteilung stellt sich bei freier Polymerisation aufgrund der kurzen Lebensdauer der Radikale praktisch augenblicklich ein.

Der Umsatz einer radikalischen Polymerisation wird bestimmt von der Reaktionszeit und der Reaktionsgeschwindigkeit  $R_p$ . Sie ist definiert als die Abnahme der Monomerkonzentration [M] mit der Zeit *t*:

$$R_{\rm p} = -\frac{\mathrm{d}[\mathrm{M}]}{\mathrm{d}t} = k_{\rm p} \cdot [\mathrm{M}] \cdot [\mathrm{R}^*] \tag{8}$$

Hier ist  $k_p$  die Wachstumsgeschwindigkeitskonstante der Polymerisation und [R\*] die Radikalkonzentration.

Die Struktur der gebildeten Polymere ist dabei abhängig von der Art der verwendeten Monomere und eventueller Folge- oder Nebenreaktionen. Bei der Verwendung von mehreren unterschiedlichen Monomeren können sich je nach den gewählten Bedingungen so genannte Copolymere bilden. Diese werden unterschieden nach der Anordnung der einzelnen Bausteine. In einer linearen Kette kann sich ein statistisches, alternierendes, Gradientenoder Blockcopolymer bilden. Im ersten Fall werden die Monomere zufällig, im zweiten abwechselnd integriert, wohingegen bei einem Gradientencopolymer zu Beginn der Kette eine Monomerart überwiegt, sich die Verhältnisse aber kontinuierlich ändern, bis die andere Monomerart im Überschuss vorhanden ist. Bei einem Blockcopolymer gib es dagegen keine Durchmischung der Monomerarten sondern klar abgegrenzte Bereiche. Diese Form stellt eine Möglichkeit eines Pfropfpolymers auf Cellulose dar, worauf weiter unten eingegangen werden soll. Solche Polymere werden normalerweise hergestellt, indem entweder die einzelnen Blöcke separat hergestellt und anschließend verknüpft werden oder ein Block fertig polymerisiert wird und anschließend das zweite Monomer von diesem ausgehend wächst. Werden mehr als zwei unterschiedliche Monomere verwendet, können sich ähnliche Verteilungen und Kombinationen von diesen ergeben.



Abbildung 12: Lineare Copolymere: a) Homopolymer, b) statistisch, c) Gradienten-, d) alternierend, e) Blockcopolymer

Zusätzlich zur chemischen Abfolge der Monomere ist die Architektur des Polymers von großer Bedeutung für dessen Eigenschaften. Neben linearen Ketten, wie in Abbildung 12 dargestellt, können sich auch kurz- und langkettenverzweigte Polymere bilden, ebenso wie Kamm- oder Pfropfcopolymere und Dendrimere (Abbildung 13). Einen Sonderfall stellen dabei vernetzte Polymere dar. Hierbei gibt es keine definierte Molmasse mehr, da die einzelnen Ketten nicht mehr zu unterscheiden sind. Solche Polymere können auch nicht mehr in Lösung gebracht werden, da sie immer ein zusammenhängendes Partikel bilden. Bei Lösungsmittelzugabe gehen die einzelnen Abschnitte zwar in Lösung, werden aber durch ihre kovalenten Verbindungen zurückgehalten. Durch Aufnahme von Lösungsmittelmolekülen vergrößert sich dabei das Volumen des Netzwerkes, es quillt.<sup>16</sup>



Abbildung 13: Polymerarchitekturen: a) linear, b) kurz-, c) langkettenverzweigt, d) Pfropf- oder Kammpolymer, e) Dendrimer, f) Polymernetzwerk.

### 4.2.1 DIE POLYMERISATION IN EMULSION

Eine Sonderform der radikalischen Polymerisation ist die Emulsionspolymerisation.<sup>15</sup> Hierbei wird ein Lösungsmittel verwendet, das den Initiator gut, das Monomer jedoch nur schlecht löst. Zusätzlich zu Monomer, Lösungsmittel und Initiator wird hierbei ein Emulgator zugegeben, beispielsweise ein ionisches Tensid. Werden die Komponenten gemischt, bilden sich einerseits große Monomertröpfchen in Lösung (ca. 1-5 µm) und andererseits so genannte Mizellen, die um etwa drei Größenordnungen kleiner sind und ebenfalls Monomer aufnehmen können. Der Initiatorzerfall findet bei der Emulsionspolymerisation in die Mizellen oder Monomertröpfchen gelangen. Allerdings gibt es mit ungefähr  $10^{21}$  wesentlich mehr Mizellen pro dm<sup>3</sup> als Monomertröpfchen, deren Konzentration lediglich  $10^{13} - 10^{14}$  dm<sup>-3</sup> beträgt. Damit ist die Wahrscheinlichkeit, dass ein Radikal auf eine Mizelle trifft ebenfalls erheblich größer, sodass die Polymerisation praktisch ausschließlich hier stattfindet. Die großen Monomertropfen liefern lediglich verbrauchtes Monomer in die Lösung nach, dass wiederum in die Mizellen wandert und polymerisiert werden kann. Die gebildeten Emulgator-stabilisierten Polymerpartikel werden dann als Latexpartikel bezeichnet.



Abbildung 14: Schema der Emulsionspolymerisation. Der Lösungsmitteltropfen auf der linken Seite ist perspektivisch verkleinert. Tatsächlich sollte er etwa um den Faktor 1000 größer sein als die Mizellen. Nur noch wenig freies Monomer liegt vor. Da die Mizellen um sieben Größenordnungen häufiger sind, werden in Lösung gebildete Initiatorradikale mit größerer Wahrscheinlichkeit in diese eindringen, sodass die Polymerisation praktisch nur dort erfolgt. Verbrauchtes Monomer kann aus den großen Monomertröpfchen nachgeliefert werden.

Der Vorteil dieser Polymerisationsmethode ist, dass auch nicht-wasserlösliche Monomere in wässriger Phase umgesetzt werden können, ohne dass auf umweltschädliche oder teure organische Lösungsmittel zurückgegriffen werden muss. Außerdem kann die bei radikalischen Polymerisationen entstehende Reaktionswärme einfach abgeführt werden, da wachsende Ketten immer von einer großen Menge Wasser umgeben sind und nicht wie bei der Substanzpolymerisation in einem zunehmend festen Körper eingebettet sind. Entsprechend behält eine Emulsionspolymerisation auch bei sehr hohen Umsätzen eine niedrige Viskosität.

### 4.2.2 PFROPFUNG VON OBERFLÄCHEN

Die Funktionalisierung der Membran erfolgte dabei durch Pfropfung eines Polymers auf der Oberfläche. Der Begriff der Pfropfung stammt dabei aus der Botanik und bezeichnet einen Prozess, bei dem ein abgeschnittener Teil einer Pflanze an die Schnittstelle einer anderen angesetzt wird, wobei beide Teile zusammenwachsen und eine Mischpflanze entsteht. In der Polymerchemie bezeichnet der Begriff Pfropfung einen ähnlichen Prozess. Hier wird auf einem bestehenden Polymer oder einer Oberfläche ein weiteres Polymer gebildet. Die Menge an gebundenem Polymer wird durch den Pfropfgrad  $D_g$  angegeben. Er ist definiert als der prozentuale Massenzuwachs durch das Pfropfpolymer:

$$D_{\rm g} = \frac{m_{\rm g} - m_{\rm o}}{m_{\rm o}} \tag{9}$$

Hier ist  $m_g$  die Masse der Probe nach und  $m_0$  die Masse vor der Pfropfung.

Es werden drei Prozesse unterschieden, das Grafting-from, Grafting-to und das Graftingthrough.<sup>17</sup> Bei letzterem werden Doppelbindungen im bestehenden Material genutzt und bei einer Polymerisation zusammen mit freien Monomeren polymerisiert, sodass von jeder Bindungsstelle des Polymers zwei Polymerstränge ausgehen. Hierdurch wird jedoch die Polymerarchitektur schlecht kontrollierbar, da beide Seiten unterschiedlich lang sein können. Zusätzlich kann eine Kette auch mehrfach an die Oberfläche binden und dadurch Schleifen bilden.



Abbildung 15: Unterschiedliche Ansätze bei der Polymerisation auf Oberflächen. a) Grafting-through: eine wachsende Kette reagiert mit einer polymerisierbaren Gruppe auf der Oberfläche, von der weiteres Monomer angelagert werden kann. b) Grafting-to: eine reaktives Polymer wird an die Oberfläche gebunden. c) Grafting-from: die Polymerisation beginnt an der Oberfläche, die wachsende Kette lagert weitere Monomere an.

Beim Grafting-to wird das zu pfropfende Polymer separat hergestellt und nach dem Ende der Polymerisation mittels geeigneter Funktionalitäten auf der Oberfläche oder dem zweiten Polymer fixiert. Der Vorteil dieser Methode ist, dass durch die getrennte Polymerisation eine Analytik und gezielte Synthese der Polymere relativ leicht möglich ist. Eine verbreitete Methode des Grafting-to beruht auf der Verwendung einer so genannten Click-Reaktion. Dafür ist es nötig, dass geeignete funktionelle Gruppen, wie beispielsweise Alkine, auf der Oberfläche vorhanden sind. Diese können dann mit einer terminalen Azid-Funktion des zu bindenden Polymers reagieren und dieses so fixieren.<sup>18,19</sup>



Schema 4: Oberflächenfixierung eines Polymers mittels Click-Chemie. Das fertige Polymer wird durch Reaktion des Azids mit dem Alkin an die Oberfläche gebunden.

Allerdings bewirken die gepfropften Ketten schon bei einer geringen Anzahl an Polymeren eine sterische Abschirmung der Oberfläche, sodass sie nicht mehr zugänglich für weitere Reaktionen ist. Daher ist der erreichbare Pfropfgrad bei dieser Methode relativ gering.

Die in dieser Arbeit verwendete Methode ist das Grafting-from. Dabei wird von dem Basismaterial ausgehend polymerisiert. Es werden auf der Oberfläche (in diesem Fall der Cellulose) Radikale erzeugt, an die sich die Monomere anlagern. Die Kette ist also während des Wachstums ständig kovalent an die Oberfläche gebunden. Durch Übertragung des Radikals auf beispielsweise ein Lösemittel- oder Monomermolekül kann aber zusätzlich eine nicht-oberflächengebundene Polymerisation stattfinden. Da die im Folgenden verwendete Celluloseoberfläche auch aus einem Polymer besteht, kann das gepfropfte Material als Copolymer und die freien Ketten als Homopolymer bezeichnet werden.

Der Vorteil dieser Methode ist, dass für die Bildung neuer Ketten auf der Oberfläche nur relativ kleine Moleküle nötig sind, die Monomere und zum Beispiel ein Cer-Salz zur Radikalbildung, sodass die sterische Abschirmung der Oberfläche durch die Polymere erst bei wesentlich höheren Pfropfgraden wirksam wird. Allerdings ist die Polymerstruktur wie Dispersität und Kettenlänge nur schwer zu analysieren, da das Material durch die Bindung zur Oberfläche nicht einfach isoliert werden kann.

Eine sehr effektive Methode der Oberflächenfunktionalisierung im Sinne der Grafting-from Methode ist die Erzeugung von Radikalen auf der Oberfläche der Membran durch Einsatz hochenergetischer Strahlung wie  $\gamma$ - oder Elektronenstrahlen. Diese bewirken vereinzelte Bindungsbrüche im Material und die so generierten Radikale können eine Polymerisation initiieren.<sup>20–22</sup>



Schema 5: Strahlungsinduzierte Pfropfung an Oberflächen. Durch die Bestrahlung mit UV-  $\gamma$ - oder Elektronenstrahlen werden Radikale erzeugt, die die Polymerisation starten.

Diese Methode ist allerdings wenig geeignet für Cellulose-Membranen, da diese sehr empfindlich auf Strahlenbelastung reagieren und sich schnell zersetzen. Für Polyethersulfon-Membranen ist außerdem eine Enzym-katalysierte Methode bekannt, die hier allerdings ebenfalls nicht geeignet ist. Sie erfordert eine Reaktion der erzeugten Radikale mit Phenylengruppen der Membran, die bei Cellulose nicht vorhanden sind.<sup>23</sup> Daher wird bei diesem Material häufig auf die Radikalerzeugung durch den Einsatz von Cer<sup>IV</sup>-Salzen zurückgegriffen.

#### 4.2.3 DIE CER-INITIIERTE RADIKALISCHE POLYMERISATION AUF CELLULOSE

Die Verwendung von Cer<sup>IV</sup>-Salzen für die Pfropfung von Cellulose ist seit vielen Jahren eine etablierte Technik. Cer gehört zur Familie der Seltenen Erden, ist aber mit einem Gewichtsanteil an der Erdrinde von 4,3·10<sup>-3</sup> % häufiger als beispielsweise Blei oder Quecksilber.<sup>24</sup> In der organischen Chemie wird Cer<sup>IV</sup>-ammoniumnitrat (CAN) häufig als starkes Oxidationsmittel für vielfältige Reaktionen eingesetzt.<sup>25,26</sup> 1958 beschrieben Mino und Kaizerman erstmals die Polymerisation von Vinylmonomeren auf Cellulose durch CAN und schlugen einen ersten einfachen Mechanismus vor (Schema 6).<sup>27</sup>

 $Ce^{IV} + RCH_2OH \longrightarrow B \longrightarrow Ce^{III} + H^+ + RCHOH (oder RCHH2O)$ 

Schema 6: Mechanismus der Radikalbildung mit Alkoholen und Cer<sup>IV</sup> nach Mino und Kaizermann mit B als nicht näher definiertem Cer-Alkohol-Komplex.

Die Bildung von sauerstoffzentrierten Radikalen wie oben gezeigt wird allerdings in weiteren Untersuchungen nicht mehr aufgegriffen. Alkoxyradikale sind hochreaktiv und zerfallen in der Regel sehr schnell zu stabileren Radikalen, bevor eine Polymerisation initiiert werden kann. Da in keiner dem Autor bekannten Studie Alkoxyradikal-initierte Spezies oder Zerfallsprodukte von solchen Radikalen nachgewiesen wurden, wird davon ausgegangen, dass diese Spezies nicht gebildet wird beziehungsweise keine weitere Bedeutung für die Polymerisation hat.



Schema 7: Zwei Wiederholeinheiten der Cellulose mit Nummerierung der Kohlenstoffatome. Eine Analoge zählweise ist gültig für alle Glucosederivate.

Duke<sup>28</sup> und Trahanovsky<sup>29</sup> beschäftigten sich mit Cer-Diol-Komplexen und es wurde gezeigt, dass Cer<sup>IV</sup>-Ionen mit 1,2-Diolen einen Chelatkomplex bilden und es zu einer Spaltung der Bindung zwischen den beteiligten Kohlenstoffen unter Bildung von Radikalen kommen kann. Bei Cellulose- und Glucosederivaten stehen allerdings eine Vielzahl an benachbarten Hydroxyfunktionen zur Verfügung. Dabei ergibt sich eine Reihenfolge der Reaktionsgeschwindigkeiten von 1,2-Glycol > primärer- > sekundärer- > tertiärer Alkohol.<sup>30</sup> Die höchste Reaktivität bei Glucose wurde am Halbacetal gefunden, was einer C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>-Spaltung entspricht.<sup>30</sup> Pottenger und Johnson konnten zeigen, dass diese Form 360 mal reaktiver ist, als die Spaltung an C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>, was zur bevorzugten Bildung von Blockcopolymeren führen würde.<sup>31</sup>



Schema 8: Mechanismen der Pfropfung von Cellulose mit Cer nach Hinojosa und Arthur am Beispiel von Acrylnitril. Die Terminierung mit Ce<sup>IV</sup> ist beispielhaft gezeigt und kann auch an der wachsenden Kette erfolgen.

Weitergehend wurde die Reaktion am Beispiel der Pfropfung von Cellulose mit Acrylnitril von Hinojosa und Arthur mittels Elektronenspinresonanz (ESR) Spektroskopie untersucht.<sup>32</sup> Sie beschreiben die Bildung eines Chelatkomplexes mit anschließendem C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>-Bindungsbruch unter Bildung eines Alkohols, eines Aldehyds und einer Radikalfunktion, die anschließend eine Polymerisation initiieren kann. Auch machen sie Vorschläge für mögliche Terminierungsreaktionen in dem verwendeten System (Schema 7).

Fernández und Guzmán zeigten, dass bei einer Cer initiierten Polymerisation mit Glucose in einem ersten, schnellen Schritt die Halbacetal-Endgruppen reagieren und in der Folge C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>und C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>-Diole gespalten werden,<sup>33</sup> wobei nach Casinos letztere aufgrund sterischer Hinderung des Übergangszustandes weniger bevorzugt sein sollten.<sup>34</sup> In einer Cellulosekette ist der C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>-Diol allerdings nicht für eine Reaktion zugänglich, da C<sub>4</sub> die Verknüpfung zur nächsten Glucoseeinheit bildet. Zu beachten ist, dass Cer<sup>IV</sup> Radikale oxidieren kann. Dies eröffnet für die Cer-initiierte Polymerisation einen weiteren Kettenabbruchsmechanismus. Da dieser Schritt unter Abspaltung eines Protons erfolgt, bildet sich das gleiche Produkt wie durch Abgabe eines Wasserstoffatoms bei der Disproportionierung.<sup>35,36</sup>

## 4.3 DIE ATOM-TRANSFER RADIKALISCHE POLYMERISATION (ATRP)

Jedes Radikal einer freien radikalischen Polymerisation kann zu jeder Zeit entweder Monomer anlagern und damit die Kette verlängern oder durch Reaktion mit einem zweiten Radikal eine Terminierung eingehen. Da beide Schritte statistisch ablaufen, werden Ketten unterschiedlicher Länge gebildet. Zusätzlich können noch unterschiedliche Terminierungsprodukte gebildet werden, wobei das Produkt einer Terminierung durch Kombination bei gleicher Ausgangslänge doppelt so groß ist wie das durch eine Disproportionierung gebildete. Ein dritter Effekt, der zu einer Verbreiterung der Molmasse führt, ist, dass normalerweise nicht alle Initiatormoleküle gleichzeitig gespalten werden. Dadurch werden über den Verlauf der Polymerisation kontinuierlich Radikale erzeugt, während sich die Monomerkonzentration laufend verringert. Da der Polymerisationsgrad P proportional zur Monomerkonzentration [M] und antiproportional zur Wurzel der Initiatorkonzentration [I] ist, ändert sich gemäß (10) vereinfacht dargestellt auch die Kettenlänge.

$$P \propto \frac{[M]}{\sqrt{[I]}} \tag{10}$$

Diese drei Punkte treten bei allen radikalischen Polymerisationen auf und können lediglich unterdrückt, nicht aber gänzlich verhindert werden. Daher ist die durch freie radikalische Polymerisation erreichbare Dispersität auf einen Wert von D > 1,5 beschränkt.<sup>37</sup>

Ein weiterer Nachteil der freien radikalischen Polymerisation ist, dass das Kettenwachstum sehr schnell verläuft. Aufgrund der kurzen Lebensdauer der beteiligten Radikale ist es unmöglich, während des Wachstums steuernd einzugreifen, um zum Beispiel ein anderes Monomer hinzuzugeben.

Umgehen lassen sich diese Nachteile durch die Verwendung einer lebenden Polymerisation, bei der per Definition keinerlei Terminierung oder Übertragung stattfindet, wie beispielsweise bei der anionischen Polymerisation.<sup>38</sup> Dadurch können, wenn die Initiierungsgeschwindigkeit deutlich höher als die Wachstumsgeschwindigkeit ist, gegen eins gehende Dispersitäten erreicht werden.<sup>39</sup> Bei einer radikalischen Polymerisationen dagegen kann die Terminierung allerdings nicht vollständig verhindert werden, sodass keine lebende Polymerisation erreicht wird. Eine Möglichkeit, sie zumindest sehr stark zu unterdrücken, ist
die Verwendung von so genannten reversibel desaktivierten Polymerisationen wie der RAFT (*reversible addition-fragmentation chains transfer*)- oder der ATR (*atom transfer radical*)-Polymerisation.

Bei der ATRP wird eine abspaltbare Gruppe wie ein Brom- oder Chloratom am Initiator benötigt. Diese Gruppe wird katalytisch von einem Übergangsmetall-Komplex wie beispielsweise einem Cu<sup>II</sup>-Komplex homolytisch gespalten. Nach dem Bindungsbruch verbleibt ein freies Radikal, das eine Polymerisation initiieren kann.

Die freie Radikalspezies steht dabei immer im Gleichgewicht mit der reversibel terminierten, ,schlafenden' Form, die durch Übertragung des Halogenids vom Komplex auf die Kette gebildet wird. Durch geeignete Wahl von Lösungsmittel und Liganden kann das Gleichgewicht so eingestellt werden, dass jeweils nur kurzzeitig freie Radikale vorliegen. Diese können dann einige wenige Monomere anlagern, aber bevor es zu einer Terminierung kommt, werden sie wieder in die reversibel deaktivierte Form gebracht. Dadurch lässt sich die Lebensdauer einer Kette stark verlängern, sodass auch nach Tagen noch Radikale rückgebildet werden können. Da alle Ketten so die gleiche Wachstumswahrscheinlichkeit haben und Terminierung vermieden wird, zeigen so hergestellte Polymere eine enge Molmassenverteilung.

Sind alle in Lösung vorhandenen Monomere verbraucht, findet auch kein weiteres Wachstum statt. Da die Ketten jedoch gleichzeitig auch nicht terminieren, kann später ein neues Monomer zugegeben werden, welches dann mit dem schon bestehenden Material ein Blockcopolymer bildet.

$$Cu^{I}L_{X}$$
 + R-Br  $\longrightarrow$   $Cu^{I}L_{X}$ -Br + R  $+$  M

Schema 9: Darstellung des ATRP-Prozesses, beispielhaft mit einem Kupferkomplex und Brom gezeigt; durch homolytische Abstraktion des Broms wird ein Radikal generiert, welches eine Polymerisation durchführen kann. Durch Rückreaktion kann es reversibel deaktiviert werden, wodurch Terminierungsreaktionen unterdrückt werden.

Die Polymerisationsgeschwindigkeit *R*<sub>p</sub> einer ATRP ergibt sich dabei nach

$$-\frac{d[M]}{dt} = R_{p} = k_{p}[M][P^{*}] = k_{p}K_{ATRP}\left(\frac{[P_{n}X][Cu^{I}/L][M]}{[X-Cu^{II}/L]}\right)$$
(11)

mit der Propagationsgeschwindigkeitskonstanten  $k_p$  und der ATRP-Gleichgewichtskonstante  $K_{\text{ATRP}}$ .<sup>40</sup> Je höher die Monomer- [M] oder Radikalkonzentration [P\*] ist, desto schneller verläuft die Polymerisation. Es gilt allerdings zu beachten, dass die Polymerisationsgeschwindigkeit sich lediglich auf den Verbrauch an Monomer bezieht. Wird eine größere Anzahl an Radikalen generiert, wird schneller ein höherer Umsatz erreicht, das Wachstum einzelner Ketten bleibt aber unverändert.

Eine Änderung des Verhältnisses der Konzentrationen der Cu<sup>I</sup>- und Cu<sup>II</sup>-Spezies dagegen ändert das Wachstum auch einzelner Ketten. Eine relative Erhöhung des aktivierenden [Cu<sup>I</sup>] bewirkt, dass schlafende Ketten schneller wieder reaktiviert werden, sodass sich das Verhältnis von aktiven und reversibel deaktivierten Polymeren zu ersteren verschiebt. Dadurch werden schneller höhere Molmassen erreicht, durch die gestiegene Radikalkonzentration geht aber der reversibel deaktivierte Charakter der Polymerisation zurück, da sich die Wahrscheinlichkeit, dass sich zwei Radikale treffen und eine Terminierung auftritt, erhöht.

Das Verhältnis von aktiven und schlafenden Ketten kann auch durch Verschiebung des ATRP-Gleichgewichtes erreicht werden:

$$K_{\text{ATRP}} = \frac{[\text{X}-\text{Cu}^{\text{II}}/\text{L}][\text{P}_{n}^{*}]}{[\text{Cu}^{\text{I}}/\text{L}][\text{P}-\text{X}]}$$
(12)

Welches Verhältnis der Kupferkomplexe sich einstellt, ist dabei abhängig von dem verwendeten Lösungsmittel und den eingesetzten Liganden.<sup>41</sup>

In wässrigen Systemen kann zusätzlich ein Halogenid der Cu<sup>II</sup>-Spezies durch ein Wassermolekül ersetzt werden, sodass sich [X–Cu<sup>II</sup>/L] im Laufe der Reaktion verringert. Dadurch ist die Polymerisation in wässrigen Systemen häufig schnell, aber weniger kontrolliert.<sup>42</sup> Dieser Effekt kann jedoch durch Zugabe von mehr Cu<sup>II</sup> oder dem entsprechenden Halogenid unterdrückt werden.

Wird zu Beginn einer ATRP kein Cu<sup>II</sup>-Salz zugegeben, muss durch Aktivierung einiger Ketten die deaktivierende Spezies erst gebildet werden, sodass in der Anfangsphase ein Mangel an dieser herrscht, was zu verstärkter Terminierung führt.<sup>43,44</sup>

Die ATR-Polymerisation findet inzwischen auch vermehrt industrielle Anwendung, insbesondere da sie nur relativ einfache, kommerziell erhältliche Chemikalien benötigt und neben Kupfer noch eine Vielzahl anderer Metalle wie Molybdän, Osmium oder sogar Eisen für die Polymerisation eingesetzt werden kann,.<sup>45-47</sup> Außerdem kann sie unter milden Bedingungen durchgeführt werden und ist relativ sauerstofftolerant.<sup>48</sup>

## 4.4 CHARAKTERISIERUNG VON OBERFLÄCHENGEBUNDENEN POLYMEREN

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Vielzahl an unterschiedlichen Analysemethoden verwendet. Einige davon, wie beispielsweise die Kernspinresonanzspektroskopie (*Nuclear Magnetic Resonance*, NMR) oder Elektospray-Ionisations-Massenspektrometrie (ESI-MS) gehören zu den in der Chemie alltäglich angewendeten Methoden, sodass auf eine genauere Erklärung hier verzichtet werden kann.

Andere der angewendeten Techniken sind dagegen weniger weit verbreitet, sodass hier jeweils kurz die zugrunde liegenden Prinzipien dargestellt werden sollen.

# 4.4.1 DIE GEL-PERMEATIONS-CHROMATOGRAPHIE

Diese Technik ist in der Analytik der Polymere eine sehr wichtige, wenn nicht die wichtigste Charakterisierungsmethode. Da die molekulare Zusammensetzung eines Polymers üblicherweise bekannt ist, da sie der der eingesetzten Monomere entspricht, ist dieser Punkt nur in Sonderfällen von Interesse.<sup>49,50</sup> Ebenso ist die Bestimmung der Endgruppen mehrheitlich von untergeordneter Wichtigkeit, da diese nur einen sehr geringen Anteil am Polymer ausmachen und seine Eigenschaften dementsprechend wenig beeinflussen.<sup>51,52</sup>

Entscheidend für die Eigenschaften sind bei Polymeren häufig die Länge der einzelnen Ketten und die Breite der Längenverteilung. Diese werden standardmäßig mittels Gel-Permeations-Chromatographie (GPC) bestimmt. Die GPC ist eine Technik, die auf dem Größenausschluss unterschiedlicher Partikel basiert, weswegen sie auch als Größenausschlusschromatographie (*Size Exclusion Chromatography*, SEC) bezeichnet wird.



Schema 10: Prinzip der Trennung unterschiedlicher Polymermassen durch GPC. Für Polymere kleinerer Molmassen ist aufgrund des kleineren Volumens mehr Porenvolumen zugänglich. Dadurch benötigen sie länger um die Säule zu durchqueren.

Prinzipiell wird bei einer Molmassenbestimmung mittels GPC das Polymer gelöst und auf eine Trennsäule gegeben, die mit einem porösen Material gefüllt ist. Dies setzt also voraus, dass das zu untersuchende Polymer von der Oberfläche entfernt und isoliert werden konnte. Je nach Masse der Polymerkette ergibt sich ein bestimmtes Volumen, dass diese in der Lösung einnimmt und dass durch den sogenannten hydrodynamischen Radius beschrieben wird. Je nach Poren- und Polymergröße können die gelösten Ketten nun in einen unterschiedlichen Anteil der Poren hineingelangen, sodass sich unterschiedliche zugängliche Volumina in der Säule ergeben.<sup>53</sup>

Da alle Polymere mit dem gleichen Volumenstrom durch die Säule geleitet werden, brauchen kleinere Ketten eine längere Zeit um hindurchzugelangen, da ihnen mehr Volumen in der Säule zur Verfügung steht. Das zugängliche Volumen für größere Polymere ist dabei geringer, sodass diese schneller durch die Säule gespült werden.

Häufig werden mehrere Säulen verwendet, um eine bessere Auftrennung zu erreichen. Nach den Säulen wird die Konzentration an Polymer gemessen, beispielsweise durch Brechungsindex-(*Refractive Index-*, RI-) oder UV/Vis-Detektoren.

Die GPC ist dabei eine Relativmethode, sie benötigt also eine Kalibration in Form von Polymeren mit bekannter Molmasse. Da der hydrodynamische Radius eines Polymers neben der Masse auch von der chemischen Struktur und dem verwendeten Lösungsmittel abhängig ist, ergeben sich bei gleicher Masse für unterschiedliche Polymere unterschiedliche hydrodynamische Radien. Diese können aber bei bekannten Mark-Houwink-Parametern berechnet werden, sodass mit der gleichen Kalibration unterschiedliche Polymere gemessen werden können.<sup>54,55</sup>

## 4.4.2 DIE RASTERELEKTRONENMIKROSKOPIE

Die Rasterelektronenmikroskopie (REM, oder *Scanning Electron Microscopy*, SEM) ist eine Methode um Objekte vergrößert darzustellen, wobei die theoretisch erreichbaren Vergrößerungen erheblich größer sind als bei der klassischen Lichtmikroskopie. Die Elektronenmikroskopie basiert auf der Abbildung durch Elektronenstrahlen, die fokussiert über die Probe geführt werden. Diese erzeugen Sekundärelektronen in der Probe, die von einem Detektor aufgefangen werden. Die erzeugten Sekundärelektronen strahlen von der Oberfläche ungerichtet ab, werden aber durch die positive Ladung des Detektors angezogen. Somit werden alle freien Elektronen detektiert, die Auflösung der Probe erfolgt lediglich durch das Abfahren der Oberfläche mit dem Elektronenstrahl.

Um zu verhindern, dass ein Großteil der freigesetzten Elektronen absorbiert wird, ist es nötig, dass solche Messungen im Hochvakuum durchgeführt werden, sodass die Elektronen ungehindert zum Detektor gelangen können.



Schema 11: Funktionsweise eines Rasterelektronenmikroskops: Die Oberfläche wird von einem fokussierten Elektronenstrahl abgefahren. Dabei werden in der Probe durch die Bestrahlung Sekundärelektronen erzeugt, die von einem Detektor aufgefangen werden.

Die Erzeugung des Elektronenstrahls erfolgt durch eine Glühkathode und eine anschließende Beschleunigung und Fokussierung in einem elektrischen Feld. Durch die Bestrahlung mit Elektronen lädt sich die Probe negativ auf, sodass sie dem Strahl mit der Zeit ein immer stärker werdendes Feld entgegensetzt. Um dies zu verhindern, werden Proben für die REM, sofern sie nicht selber leitfähig sind, mit Gold oder Graphit bedampft, wodurch die Ladung abgeführt werden kann.

## 4.4.3 DIE RASTERKRAFTMIKROSKOPIE

Die Rasterkraftmikroskopie (auch Atomkraftmikroskopie, *Atomic Force Microscopy*, AFM) ist eine Methode, um Oberflächen im Mikrometer- oder Submikrometerbereich darzustellen. Dafür wird eine Messspitze, der sogenannte Cantilever, in einem Raster über die Probenoberfläche gefahren, wobei die Spitze mit einem Laser bestrahlt wird. Durch Interaktion mit der Oberfläche biegt sich der Cantilever, was zu einer Veränderung der Reflexion führt. Durch Veränderung der Höhe des Messkopfes wird dies kompensiert und aus der dafür nötigen Höhenänderung ein Höhenprofil der Probe angefertigt.

Bei dieser direkten Methode kann der Cantilever allerdings die Oberfläche schädigen, sodass für sehr weiche Materialien ein anderer Ansatz genutzt werden sollte.



Schema 12: Funktionsprinzip des AFM: Durch Reflexion des Laserstrahls werden Änderungen in der Biegung des Cantilevers registriert. Darauf wird die Höhe des Probenarms soweit angepasst, dass die ursprüngliche Reflexion wieder hergestellt wird. Durch Rastern der Probe entsteht ein dreidimensionales Abbild der Oberfläche.

Beim sogenannten PeakForce Tapping wird der Cantilever in Schwingung versetzt und für jeden Messpunkt die Änderung der Schwingungsfrequenz mit dem Abstand zur Probe bestimmt. Daraus lässt sich die Kraft ermitteln, die die Oberfläche auf den Cantilever ausübt. Indem ein Maximalwert für diese eingehalten wird, kann vermieden werden, dass die Oberfläche durch die Messung verändert wird. Dadurch können auch sehr weiche Proben untersucht werden. Zusätzlich wird es durch die Kraft-Abstandskurven möglich, unterschiedliche mechanische Eigenschaften des Materials zu bestimmen, wie beispielsweise die Härte in Form des Derjaguin-Muller-Toporov-(DMT-) Moduls oder die Adhäsivität.<sup>56</sup>

# 5 AUFKLÄRUNG DER CER BASIERTEN PFROPFUNG AUF MIKROPORÖSEN OBERFLÄCHEN

Abgesehen von den makroskopischen Eigenschaften wie Permeabilität und Kapazität sind poröse Membranen nur schwer zu analysieren. Viele übliche Techniken der Oberflächenanalytik versagen hier, da das, was von Interesse ist, nämlich das Pfropfpolymer, normalerweise nur in geringer Konzentration vorliegt und sich noch dazu nur zum kleinsten Teil auf der Anströmfläche befindet. Der bei weitem größte Anteil der Oberfläche einer Membran ist nicht direkt zugänglich sondern befindet sich im Inneren der Porenstruktur. Damit ist dieser Anteil zum Beispiel für abgeschwächte Totalreflexions-Infrarotspektroskopie (*Atenuated Total Reflection-Infra Red*, ATR-IR), AFM oder Ellipsometrie nicht zugänglich.

Mengenmäßig macht das Pfropfpolymer, je nach Methode der Funktionalisierung, etwa 15 % der Masse einer gepfropften Membran aus. Der bei weitem größte Anteil des Polymers besteht dabei allerdings aus Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff, genauso wie die Membran selbst. Zudem ist das Material aufgrund der Porosität sehr inhomogen. Damit ist eine Analytik mittels Röntgenbeugung oder Festkörper-Kernspinresonanz (*Nuclear Magnetic Resonance*, NMR) ebenfalls ungeeignet. Zusätzlich sind die Eigenschaften aufgrund der zugrunde liegenden Membran inhärenten Schwankungen unterworfen, wodurch alle Messungen mit einer gewissen Toleranz betrachtet werden müssen.

# 5.1 HERSTELLUNG VON GEPFROPFTEN MEMBRANEN

Die hier verwendeten regenerierten und vernetzten Cellulosemembranen wurden durch eine Cer-initiierte Pfropfung in einer Emulsion modifiziert. Die Proben hatten eine Porengröße von etwa 3 – 5 µm bei einer Dicke von ca. 230 µm. Durch die hohe Porosität von 80 % ergibt sich für die Membran eine relativ große Gesamtoberfläche, die mittels BET-Messungen bestimmt und mit ca.  $1 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  angegeben wurde. Bei einem Gewicht von 8 mg pro Quadratzentimeter Anströmfläche bei einer ungepfropften Membran ergibt sich damit eine spezifische Oberfläche von 80 m<sup>2</sup> pro Quadratmeter Anströmfläche. Das großtechnisch hergestellte Material wurde mit einer Länge von ca. 100 m und einer Breite von 80 cm zur Verfügung gestellt.

Zusätzlich zu der Cellulose besteht die vorliegende Membran aus einem Polyester-Vlies zur mechanischen Verstärkung. Dieses ist sehr reaktionsträge, sollte also unter den meisten Reaktionsbedingungen unverändert bleiben. Es ist allerdings bekanntermaßen instabil gegen Basen, sodass es sich bei hohen pH-Werten zersetzen sollte. Die Membran wurde in einer Emulsion mit Glycidylmethacrylat (GMA) und Cer<sup>IV</sup> umgesetzt und anschließend durch Reaktion der Epoxy-Funktion in eine Sulfonsäure funktionalisiert. Für diese Umsetzung ist bekannt, dass sich unter basischen Bedingungen das sterisch weniger gehinderte sulfonierte Produkt bildet.<sup>12,13</sup> Dabei ergibt sich ein Massenanteil des Polymers von ungefähr 15 % an der Gesamtmasse der fertigen Membran.



Schema 13: Während der Herstellung verwendetes Monomer Glycidylmethacrylat (GMA) und sulfonierte Form.

Für die so erhaltenen Proben wurden die Permeabilität und unterschiedlichen Kapazitäten bestimmt und die Werte für folgende Experimente als Vergleichswerte verwendet. Vor der Sulfonierung zeigen die Membranen praktisch keine Bindung, sodass die Werte hier nicht aufgeführt werden. Die Permeabilitäten der ungepfropften und der gepfropften Membranen sind identisch und unterscheiden sich auch nicht bei der Verwendung von reinem Wasser und Kaliumphosphatpuffer (KPi, pH 7).

Tabelle 1: Eigenschaften des Standardmaterials. Außer bei der spezifischen Oberfläche beziehen sich die Flächenangaben auf die Anströmfläche.

<sup>1</sup>: Ausgangsmaterial und GMA-gepfropfte Membran

<sup>2</sup>: Sulfonierte Membran

Membraneigenschaft	Wert	
Spezifische Oberfläche (Herstellerangabe)	1 m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup>	
Porengröße (Herstellerangabe)	3 – 5 μm	
Permeabilität (Wasser/Puffer) <sup>1</sup>	650 ml min <sup>-1</sup> bar <sup>-1</sup> cm <sup>-2</sup>	
Pfropfgrad	15 %	
Flächengewicht	80 g m <sup>2</sup>	
Permeabilität (Wasser/Puffer) <sup>2</sup>	130/240 ml min <sup>-1</sup> bar <sup>-1</sup> cm <sup>-2</sup>	
Ionische Kapazität	2,6 μmol cm <sup>-2</sup>	
Proteinbindungskapazität (Lysozym/γ-Globulin)	1,0/0,5 mg cm <sup>-2</sup>	

## 5.2 CHARAKTERISIERUNG DER PFROPFSCHICHT

Die Bestimmung der exakten Bindung in der Cellulose, an der die Polymerisation initiiert wird, wurde, wie in Kapitel 4.2.3 dargelegt, schon ausführlich untersucht. Auf die Membraneigenschaften wie Fluss und Kapazität hat dies allerdings nur wenig Einfluss. Von größerer Bedeutung ist hierbei die Polymerlänge, -dichte und -verteilung.

So bestimmt beispielsweise die Menge an Polymer, egal ob durch mehr oder durch längere Ketten, die Anzahl an Bindungsstellen, die für Interaktionen zur Verfügung stehen. Außerdem ist sie verantwortlich für die Verringerung des Porendurchmessers und damit die Permeabilität der Membran. Eine Kenntnis dieser Größen ist also essentiell für das Verständnis der Struktur und der Eigenschaften der Pfropfschicht.

## 5.2.1 Bestimmung der Polymerlänge

Der Einfluss der Polymerlänge ergibt sich aus relativ einfachen Überlegungen und Modellen. Da mehr geladene Monomere vorhanden sind, sollte ein längeres Polymer eine höhere Bindungskapazität aufweisen, abhängig von der Größe des zu bindenden Partikels. So ergibt eine Verlängerung einer Kette um ein Glied genau eine weitere Bindungsstelle für beispielsweise ein kleines anorganisches Ion wie Natrium. Bei der Bindung von größeren Molekülen wie beispielsweise Proteinen wird dieser Effekt wesentlich geringer ausgeprägt sein.

### Abschätzung der ungefähren Kettenlänge nach Hagen-Poiseuille

In Bezug auf den Fluss lässt sich der Einfluss der Kettenlänge durch eine einfache Überschlagsrechnung zeigen. Unter Verwendung des Hagen-Poiseuilleschen Gesetzes<sup>57</sup>

$$\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}t} = \frac{\pi}{8\eta l} (p_1 - p_2) r_{\mathrm{R}}^4$$
(13)

mit dem strömenden Volumen dV pro Zeit dt, der Viskosität der Flüssigkeit  $\eta$ , der Rohrlänge *l*, und dem -radius  $r_R$  sowie den Drücken  $p_1$  vor und  $p_2$  hinter dem Rohr, lässt sich eine erste Betrachtung machen. Deutlich ist, dass eine Änderung des Rohrradius, der hier dem Porenradius entspricht, eine sehr große Auswirkung auf den möglichen Fluss bei gleichem Druck hat.

Werden die bekannten Permeabilitäten von 650 ml min<sup>-1</sup> bar<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup> für die ungepfropfte und die gepfropfte Membran zugrunde gelegt, zeigt sich, dass sich der Radius durch Aufbringen der unfunktionalisierten GMA-Schicht nicht wesentlich ändern kann. Da die Flüsse näherungsweise gleich sind und sich die Werte wie Membrandicke und Viskosität der Lösung ebenfalls nicht ändern, muss auch der Porenradius in etwa gleich bleiben. Ein ganz anderes Ergebnis zeigt sich, wenn die nicht-gepfropfte oder die gepfropfte, aber nicht-sulfonierte Membran, mit der sulfonierten verglichen wird, deren Permeabilitäten 240 ml min<sup>-1</sup> bar<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup> für Puffer und 130 ml min<sup>-1</sup> bar<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup> für Wasser sind. Wieder unter der Annahme, dass die anderen Werte ungefähr gleich bleiben, ergibt sich für den Fluss mit Wasser ein Verhältnis von 650 : 130. Dies in (28) eingesetzt ergibt eine Verkleinerung des Porenradius auf etwa 66 % durch die Sulfonierung. Bei Verwendung von KPi-Puffer geht diese Änderung zurück auf einen Wert von ca. 78 % (angenommenes Flussverhältnis 650 : 240). Bei einem Porendurchmesser von 3 – 5 µm ergibt sich eine Dicke der Pfropfschicht von 0,50 – 0,85 µm in Wasser und 0,33 – 0,55 µm in Pufferlösung.

Da die Änderung des Flusses und damit des Porenradius bei Verwendung unterschiedlicher Lösungen vollständig reversibel ist, kann diese Eigenschaft der Quellung des Polymerfilms zugeschrieben werden. Das unfunktionalisierte PGMA ist in Wasser oder der Pufferlösung praktisch unlöslich, daher ist die Quellung minimal. Nach der Funktionalisierung sind die meisten Monomereinheiten starke Säuren, die in Wasser vollständig dissoziiert vorliegen. Dadurch bildet das Polymer einen Polyelektrolyten, der ohne Oberflächenfixierung sehr gut wasserlöslich wäre. Die hohe Ladungskonzentration entlang der Kette bewirkt einen hohen osmotischen Druck, sodass viel Wasser in die Gelschicht strömt. Zusätzlich bewirkt die elektrostatische Abstoßung der einzelnen Ladung entlang der Kette eine starke Elongation. Wird das Lösungsmittel gegen den Puffer getauscht, geht die Quellung zurück. Dieser Effekt der Verringerung der Quellung mit Erhöhung der Ionenstärke der Lösung ist ein bekannter Effekt<sup>58</sup> und wird auf eine Angleichung des osmotischen Drucks in der Lösung und im Hydrogel zurück geführt.<sup>59</sup> Da die Druckdifferenz geringer wird, wird weniger Wasser in das Gel gepresst und sein Volumen wird kleiner.



Schema 14: Darstellung der Membranquellung. In Wasser kollabiert das nicht-gepfropfte Polymer. Nach der Sulfonierung ist das lösliche Polymer in Wasser elongiert, der Porenradius nimmt ab.

Die für die berechnete Porenverengung benötigte Größe des Pfropfpolymers lässt sich durch Berechnung der Länge einer Kette bei einem bestimmten Polymerisationsgrad abschätzen. Durch Einsetzen der bekannten Werte für die Bindungslängen einer C-C-Bindung von 150 pm und dem Bindungswinkel in sp<sup>3</sup>-Hybridisiertem Kohlenstoff lässt sich die maximale Länge pro Monomer abschätzen.<sup>60</sup> Es ergibt sich die Länge *l* bei einem Polymerisationsgrad *n* nach



Schema 15: Grundlage Berechnung der Länge pro Monomereinheit einer Polymerkette.

Für eine Pfropfschicht der Dicke 0,5 µm ergibt sich damit beispielhaft eine Kettenlänge von etwa 3500 Monomereinheiten. Es sei nochmals darauf hingewiesen, dass diese Berechnungen nur als grobe Näherung zu verstehen sind. Das Hagen-Poiseuille-Gesetz gilt in seiner Standardform für lineare Rohre mit rundem Querschnitt und nur bei laminaren Strömungen. Der Querschnitt einer Pore ist im Allgemeinen nicht exakt rund, wesentlich relevanter ist aber, dass der Weg durch die Pore nicht linear ist. Wie bereits erwähnt, besitzt eine Membran eine gyroide Struktur, sodass durch Kurven und Verstrebungen Turbulenzen entstehen und die Annahme einer laminaren Strömung nicht mehr gültig ist.

Die Annahme, die Länge des Polymers ergäbe sich nur aus der Summe der einzelnen Fragmente ist ebenfalls nur eine Näherung. Tatsächlich ist es höchst unwahrscheinlich, dass ein derart langes Molekül in der komplett gestreckten Form vorliegt, da diese entropisch stark benachteiligt ist.<sup>61</sup> Damit wäre eine größere Kettenlänge nötig, um eine entsprechende Porenverengung zu erreichen. Die Grundaussage, dass sich der Porenradius durch die Quellung des Polymers erheblich verkleinert und dadurch die Permeabilität abnimmt, behält allerdings seine Gültigkeit.

## Untersuchung des Hydrogels mit dem Rasterelektronenmikroskop

Eine Verringerung des Porendurchmessers von etwa 1 µm sollte gut durch Rasterelektronenmikroskopie (REM, engl. *Scanning Electron Microscopy*, SEM) zu zeigen sein. Allerdings zeigt sich keinerlei Unterschied zwischen ungepfropften und sulfonierten Membranen. Der Grund hierfür ist vermutlich, dass das Polymer im Hochvakuum des SEM stark geknäult vorliegt und so ein sehr kleines Volumen einnimmt. Dieser Befund ist ein Indiz für die oben gemachte Annahme, dass der Flussverlust nach der Sulfonierung auf eine Quellung des Hydrogels zurückzuführen ist. Wenn die Probe vollständig getrocknet ist, kollabiert das Hydrogel. In diesem Zustand ist keinerlei Verengung der Poren zu erkennen,

die eine Abnahme des Flusses erklären könnte. In Gegenwart von Wasser sollte sich ein wesentlich anderes Bild zeigen, was allerdings bei SEM-Aufnahmen schwer zu realisieren ist.



Abbildung 16: SEM-Aufnahme von ungepfropfter (links) und PGMA-gepfropfter und sulfonierter Membran (rechts).

Auffällig ist, dass die Bilder der PGMA-gepfropften Zwischenstufe (Abbildung 17) eine etwas abweichende Oberfläche aufweisen. Es finden sich diverse kleine Verdickungen in der Größenordnung von 500 nm. Nach ersten Vermutungen sollte es sich dabei um Homopolymer handeln, das während der Sulfonierung wasserlöslich wird und ausgewaschen wird. Dagegen spricht allerdings, dass Waschen der Membran mit Aceton oder Dichlormethan, welches beides geeignete Lösungsmittel für PGMA sind, diese Partikel nicht entfernen konnte. Außerdem konnte bei Soxhlet-Extraktion mit diversen Lösungsmitteln keine Substanz gewonnen werden.



Abbildung 17: SEM-Aufnahme von PGMA-gepfropfter Membran.

Auch eine Reorganisation des Polymers nach der Sulfonierung, sodass es kompakter an der Membran anliegt, ist unwahrscheinlich, da sich auch in diesem Fall eine Änderung der Morphologie nach dem Waschen mit Lösungsmitteln zeigen sollte.

Ebenso sind schwer lösliche Cer<sup>III-</sup>/CerIV-Salze aus dem Pfropfungsprozess der Membran unwahrscheinlich. Diese sind in Wasser bei pH 7 mäßig, in den angegebenen organischen Lösemitteln schlecht löslich. Beim Sulfonieren wird die Membran bei pH 8 oder höher umgesetzt. Dabei würden sich die jeweiligen Cerhydroxide bilden, die wesentlich schlechter löslich sind als die aus der Pfropfung stammenden Sulfate. Es ist also davon auszugehen, dass eine Lösung der Cersalze bevorzugt in den früheren Schritten bei niedrigerem pH stattfinden sollte, nicht bei der Umsetzung der Epoxide.

# Isolierung des gepfropften Polymers

Zur Untersuchung des gepfropften Polymers wurde versucht, es von der Membran zu trennen und anschließend zu analysieren. Wie in Schema 6 zu erkennen, entsteht bei dem postulierten Mechanismus eine Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung zwischen dem gepfropften Polymer und der Cellulose. Eine direkte Spaltung ist also nicht ohne weiteres möglich. Vielversprechender ist es, geeignete Bedingungen zu finden, bei denen die Cellulose abgebaut wird, das synthetische Polymer allerdings nicht.

Es wurde auf unterschiedliche Arten versucht, eine ungepfropfte Membran zu zersetzten. Basische Bedingungen erwiesen sich dabei als ungeeignet. Auch nach längerer, stark basischer Behandlung zeigten die Proben keinerlei optische Veränderung. Dies ist nicht unerwartet, da bekannt ist, dass Cellulosen in stark basischen Natriumhydroxidlösungen gelöst werden können, ohne sich dabei zu zersetzen. Es werden lediglich einige Alkohole zu Natrium-Alkoholaten deprotoniert.<sup>62</sup> Dass im Falle der Membran keine Lösung der Cellulose auftritt, liegt an der Vernetzung des Materials nach der Regeneration, wie bei den Grundlagen der Membran in Kapitel 4.1 erläutert. Auf diese Weise kann die Cellulose lediglich quellen, wird aber durch die Bindungen zwischen den einzelnen Ketten daran gehindert, sich frei in der Lösung zu verteilen.

Eine sehr schonende Methode der Zersetzung von Cellulose ist die Verwendung von Cellulasen. Diese hoch spezialisierten Proteine werden hauptsächlich von einigen Pilzen und Mikroorganismen gebildet und erlauben den Abbau von Cellulose zu Glucose. Sie sind beispielsweise für die Verdauung im Pansen von Wiederkäuern verantwortlich.<sup>63</sup> Verwendet wurde eine aus Pilzen (*aspergillus niger*) gewonnene Cellulase, jedoch zeigte sich auch nach sehr langer Reaktionszeit keinerlei Abbau der Membran. Dies ist vermutlich ebenfalls auf die Vernetzung der Membran zurückzuführen. Allerdings ist die Einschränkung hier vermutlich nicht die Löslichkeit der Cellulose, sondern sterische Hinderung, hervorgerufen durch die

Netzwerkstruktur, die einen Angriff des Proteins verhindert. Im Falle einer gepfropften Membran wird erwartet, dass dieser Effekt noch stärker ist, da hier zusätzlich das aufgebrachte Polymer eine Abschirmung bewirken würde.

Eine geeignete Methode wurde in der sauren Hydrolyse der Membran gefunden. Allerdings ergaben in der Literatur bekannte Hydrolysen bei gepfropften Membranen keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Entweder wurden sie nicht vollständig zersetzt (wie bei der Zersetzung nach Lee<sup>64</sup>) oder es konnte kein Pfropfpolymer isoliert werden (beispielsweise Zersetzung nach Roy<sup>65</sup>). Allerdings werden in den angegebenen Quellen generell einfache Filterpapiere verwendet. Diese sind, zumindest anhand der zugänglichen Informationen, nicht aus vernetzter, regenerierter, sondern aus natürlicher Cellulose hergestellt,<sup>66</sup> die generell weniger stabil ist.

Durch Verwendung starker Säuren wie Salzsäure oder Schwefelsäure kann die Membran dennoch schnell und vollständig abgebaut werden. Das unterstützende Vlies zeigt dabei keinerlei Schädigung, solange beim Neutralisieren kein zu hoher pH-Wert erreicht wird. Auch in NMR-Analysen der Proben wurden keine Signale gefunden, die dem Vlies-Polymer zugeordnet werden konnten.

Thermogravimetrische Untersuchungen des zersetzten Materials zeigen keine Reste des sulfonierten Materials (Abbildung 18). Dagegen entspricht die Kurve in guter Übereinstimmung der des reinen Vlieses, sodass eine vollständige Zersetzung der Cellulose bestätigt wird.

Übertragen auf eine GMA-gepfropfte bzw. GMA-gepfropfte und sulfonierte Membran zeigte sich ebenfalls eine schnelle und vollständige Zersetzung der Cellulose. Da beide Formen ein wasserlösliches Polymer bilden sollten, wurden die Lösungen durch Dialyse aufkonzentriert, nachdem große Teile des aus der Neutralisation entstandenen Salzes durch sukzessives Einengen und Dekantieren oder Zugabe von Ethanol und Filtration entfernt wurden. Allerdings konnte weder so, noch durch Flüssig-Flüssig-Extraktion, ein Polymer isoliert werden. Lösliche Komponenten bestanden nach NMR-Analyse entweder praktisch ausschließlich aus Cellulose/Glucose-Resten oder aus anorganischen Substanzen ohne detektierbare Protonen.



Abbildung 18: Thermogravimetrische Untersuchung des zersetzten Materials. Zum Vergleich die sulfonierte Membran und das reine Vlies. Bei der Untersuchung des Vlieses trat ein Fehler auf, wodurch der Massenanteil nicht repräsentativ ist. Die Zersetzungstemperatur ist aber dennoch korrekt bestimmt und bestätigt die vollständige Zersetzung der gepfropften Cellulose.

Da es nicht möglich war, PGMA oder die sulfonierte Form nach dem Abbau der Membranen zu isolieren, wurde vermutet, dass während der Pfropfung eine Vernetzung der Polymerketten auftritt. Dieser Aspekt wird in Kapitel 5.2.3 näher behandelt.

# Analyse eines gepfropften Polymers

Um die Vernetzung zu umgehen, wurden Membranen statt mit GMA mit MMA (Methylmethacrylat) gepfropft. Dieses ist ebenso wie GMA ein Methacrylat und lässt sich prinzipiell auf die gleiche Art umsetzen. Da statt des Epoxid-Restes lediglich ein Methylrest vorhanden ist, können bei MMA keine Vernetzungsreaktionen auftreten.



Schema 16: Modellverbindung ohne Vernetzungsmöglichkeit: Methylmethacrylat (MMA).

Bei der Pfropfung wurden die gleichen Reaktionsbedingungen wie zuvor eingehalten, um repräsentative Ergebnisse zu erzielen. Da Dichte und Molmasse der beiden Monomere unterschiedlich sind, musste ein unterschiedliches relatives Monomervolumen in Kauf genommen werden, um gleiche Teilchenzahlen zu erhalten. Ohne das Auftreten von störenden Nebenreaktionen konnte MMA mittels Cer auf Cellulosemembranen gepfropft werden. Die Zersetzung erfolgte dann durch Auflösen der Membran in konzentrierter Salzsäure mit anschließender Neutralisation mit Natronlauge und Natriumhydrogencarbonat. Um die vollständige Zersetzung zu bestätigen, wurde Glucose als Monomer der Cellulose unter analogen Bedingungen mit Cer und MMA umgesetzt. Beide Proben sollten also ungefähr die gleiche Zusammensetzung haben und damit ähnliche NMR-Spektren liefern.



Abbildung 19: NMR-Spektrum von MMA gepfropfter, zersetzter Cellulose (Blau) im Vergleich mit MMA gepfropfter Glucose (Rot). Die Spektren bestätigen die vollständige Zersetzung der Cellulose und den Erhalt des PMMA bei den gewählten Abbaubedingungen.

Neben einigen Verunreinigungen stimmen beide Proben gut überein, sodass die Zersetzung als vollständig angenommen werden kann. Die durch die Zersetzung von MMA-gepfropften Membranen erhaltenen Proben und das mit Glucose polymerisierte PMMA wurden mittels (GPC) untersucht.



Abbildung 20: Molmassenverteilung des aus der Zersetzung von MMA-gepfropften Membranen erhaltenen Polymers.  $M_n = 2,1 \cdot 10^5$  g mol<sup>-1</sup>, D = 2,3. Die Molmasse entspricht einem Polymerisationsgrad von 2100.

Für die mit Glucose gepfropfte Probe (Abbildung 21) ergibt sich eine sehr breite Molmassenverteilung. Dies ist für eine Emulsion zu erwarten, da einige veränderte Mechanismen auftreten.<sup>67</sup> So sind beispielsweise die Längen zweier sich treffender Ketten voneinander abhängig, da beide in der gleichen Mizelle wachsen müssen. In der klassischen Theorie der Emulsionspolymerisation wird angenommen, dass ein gebildetes Radikal in eine Monomer-gefüllte Mizelle diffundiert und dort die Polymerisation beginnt. Terminierung kann nach diesem Modell nur stattfinden, wenn ein zweites Radikal in die gleiche Mizelle gelangt und dort, nachdem es eine eigene Polymerkette gebildet hat, mit dem bereits vorhandenen eine Terminierungsreaktion eingeht.



Abbildung 21: Molmassenverteilung von mit MMA gepfropfter Glucose. Die Reaktionsbedingungen entsprachen denen der Polymerisation von MMA mit Cer auf Membran.  $M_n = 3,7 \cdot 10^5$  g mol<sup>-1</sup>,  $\mathcal{D} = 3,1$ . Die Molmasse entspricht einem Polymerisationsgrad von 3700.

Im Falle der Glucose ist ein solcher Mechanismus plausibel. Die Polymerisation auf der Membranoberfläche kann mit diesem Modell aber nur unzureichend erklärt werden. Da die durch Reaktion von Cer und Cellulose gebildeten Radikale ortsfest sind, können sie nicht in eine Mizelle diffundieren. Stattdessen müsste ein gebildetes Radikal erst einige freie Monomereinheiten aus der Lösung anlagern, um eine ausreichende Mobilität zu erhalten. Zusätzlich müsste ein zweites oberflächengebundenes Monomer ebenfalls in die gleiche Mizelle hineinwachsen, damit eine Terminierung stattfinden kann. Da Wasser aber ein sehr schlechtes Lösemittel für GMA und besonders PGMA ist, würde sich gebildetes Polymer sehr stark knäulen. Ein Kettenwachstum in die Flüssigkeit in die Mizellen hinein, kann also als sehr unwahrscheinlich angesehen werden kann.



Schema 17: Mögliche Abläufe der Polymerisation auf Cellulose mit Emulgator. Links: Das auf der Oberfläche gebildete Radikal lagert freies Monomer an und wächst in die Mizelle hinein. Dort beschleunigt sich die Polymerisation aufgrund der höheren Monomerkonzentration. Terminierung setzt ein, wenn eine zweite Kette in die Mizelle diffundiert.

Rechts: Eine Mizelle lagert sich an der Oberfläche an und umschließt dabei bestehende Radikale, die darauf im Inneren wachsen. Da mehrere Radikale aufgenommen werden, findet die Terminierung innerhalb der Mizelle statt.

Ein Wachstum ausschließlich in der wässrigen Phase ist ebenfalls unwahrscheinlich. Da GMA sich schlecht in Wasser löst, wird sich das Monomer bei Zugabe eines Emulgators bevorzugt in den Mizellen und Lösemitteltröpfchen befinden. Damit würde die GMA-Konzentration in der wässrigen Phase zusätzlich abgereichert. Nach Gleichung (8) würde dies eine deutlich verlangsamte Polymerisationsgeschwindigkeit bedeuten.

Der Emulgator besteht aus einem Glycerylstearat, dass mit Polyethylenglycol (PEG) funktionalisiert ist. Dieses kann sich an Celluloseoberflächen anlagern und bildet dabei starke Wasserstoffbrücken aus.<sup>68,69</sup> Möglicherweise lagern sich also die Mizellen bevorzugt an der Oberfläche an und bedecken dabei die gebildeten Radikale und Cer-Komplexe wie in Schema 17 dargestellt. Durch die große Nähe der Mizellen und ohne die Notwendigkeit für das GMA durch die wässrige Phase zu diffundieren, können die wachsenden Ketten so relativ leicht in die Mizellen eindringen. Da die Mizellen, verglichen mit dem Platzbedarf einer Polymerkette (siehe unten), sehr groß sind, würden sie sehr wahrscheinlich mehrere wachsende Ketten bedecken, sodass auch die Terminierung in den Mizellen ungehindert stattfinden kann.

## 5.2.2 Bestimmung der Pfropfdichte auf der Oberfläche

Neben der Kettenlänge stellt auch die Polymerdichte eine wichtige Eigenschaft des Hydrogels dar. Zum Beispiel sollte eine höhere Dichte zu mehr Bindungskapazität führen, ohne die Permeabilität zu beeinträchtigen, da zwar mehr Ladungen auf der Oberfläche vorhanden sind, der Porenradius aber bei gleicher Kettenlänge (beziehungsweise gleicher Dicke der Pfropfschicht) nicht geändert wird.

## Berechnung der Pfropfdichte aus der Molmassenverteilung

In Abbildung 20 wurde die Molmassenverteilung eines Polymers gezeigt, dass nach der Zersetzung einer Membran isoliert wurde. Bei der Pfropfung dieses PMMAs sollte die gleiche Menge an Radikalen auf der Cellulose erzeugt werden wie bei der Pfropfung von PGMA, da dieser Schritt noch nicht das Monomer einschließt. Die Initiatoreffektivität sollte ebenfalls in beiden Systemen gleich sein, sodass sich eine etwa identische Menge an direkt an die Oberfläche gebundenen Ketten ergeben sollte.

Bei Kenntnis des Massenmittels des oberflächengebundenen Polymers kann unter Berücksichtigung des bekannten Pfropfgrades die Anzahl an Ketten auf der Membran bestimmt werden. Der Pfropfgrad der MMA-gepfropften Membran betrug etwa 15 %, ähnlich der mit GMA umgesetzten. Das Flächengewicht ist also ebenfalls 1 g m<sup>-2</sup>. Damit ergibt sich eine Polymermasse pro Quadratmeter Membranoberfläche von 0,15 g m<sup>-2</sup>. Bei einer Molmasse von 2,1 · 10<sup>5</sup> g mol<sup>-1</sup> folgt daraus eine Kettendichte von 0,76 µmol m<sup>-2</sup>, entsprechend einer Fläche von 2,2 nm<sup>2</sup> pro Polymerkette oder 0,45 Ketten pro nm<sup>-2</sup>.

$$\frac{n_{\text{Polymer}}}{A_{\text{Membran}}} = \frac{m_{\text{Membran}} \cdot D_{\text{g}}}{A_{\text{Membran}} \cdot M_{\text{n},\text{Polymer}}}$$
(15)

Wenn, wie oben angenommen, näherungsweise die gleiche Kettendichte für die PGMA gepfropfte und sulfonierte Membran gilt und etwa der gleiche Pfropfgrad erreicht wird, sollte auch eine ähnliche mittlere Molmasse resultieren. Da das Natriumsalz des sulfonierten Monomers schwerer ist als das MMA (246 g mol<sup>-1</sup> statt 100 g mol<sup>-1</sup>), entspricht dies einem geringeren Polymerisationsgrad von etwa 820 Monomereinheiten.

Der Wert für die Kettendichte stimmt gut mit Werten überein, die in der Literatur für den Oberflächenbedarf einer PMMA-Kette mit 1,8 nm<sup>2</sup> bis 2 nm<sup>2</sup> angegeben werden.<sup>70,71</sup> Bei dieser Berechnung muss allerdings berücksichtig werden, dass die Oberfläche der Membran in trockenem Zustand bestimmt wurde. Da die Pfropfung in wässriger Phase stattfindet, kann die Membranfläche möglicherweise durch Quellung größer sein als angegeben, wodurch die Kettendichte geringer sein müsste als oben berechnet. Außerdem werden bei dieser Methode mögliche Verunreinigungen in der Membran wie nicht gelöste Cer-Reste oder in den Poren eingeschlossenes Homopolymer nicht berücksichtigt. Dadurch würde eine zu hohe Masse für

das gepfropfte Polymer angenommen und damit ebenfalls eine zu hohe Dichte ermittelt. Dennoch sollten die Auswirkungen dieser Fehlerquellen auf das Ergebnis nicht groß sein. Für ein Auftreten starker Quellung muss die flüssige Phase ein geeignetes Lösungsmittel für das gleiche Polymer im unvernetzten Zustand sein, was bei Cellulose und Wasser nicht gegeben ist. Verunreinigungen in größerer Menge, die den Pfropfgrad erhöhen könnten, sollten nach der Zersetzung der Membran und der Isolierung des Polymers im Zuge der Aufreinigung entfernt worden sein. Die erhaltenen Ausbeuten waren aber in guter Übereinstimmung mit den aus den Pfropfgraden ermittelten Polymermassen, sodass auch hier keine große Abweichung zu erwarten ist.

Im Inneren der Membran gebildetes freies Polymer könnte allerdings trotz ausgiebigem Spülen der Membran in den Poren zurückbleiben, wenn es im Zuge der Polymerisation zu Verschlaufungen des PMMA mit der Membranstruktur kommt. Dadurch würde die Pfropfmasse zunehmen, sodass eine zu hohe Dichte bestimmt würde. Gleichzeitig würde sich dieses Polymer bei der Zersetzung und Isolierung gleich dem Pfropfpolymer verhalten, also nicht bei der Aufarbeitung abgetrennt werden.

## Bestimmung der Pfropfdichte auf einem nicht-porösen Material

Zur weitergehenden Untersuchung wurde GMA mit Cer auf Cellophan gepfropft. Cellophan ist Folie regenerierter Cellulose, eine nicht-poröse aus die beispielsweise für Verpackungsmaterialien genutzt wird. Chemisch entspricht sie also den Cellulosemembranen unter Vernachlässigung des Vlieses. Da dieses aber ohnehin an den Reaktionen nicht teilnimmt, sollte eine identische Pfropfungsreaktion stattfinden. Die Folie wurde analog zur Umsetzung der Membranen durch Imprägnierung umgesetzt. Da das Material nicht porös ist, besitzt es eine wesentlich kleinere Oberfläche, sodass weniger Polymer pro Masse gebildet werden kann. Daher wird auf die Bestimmung des Pfropfgrades verzichtet. Stattdessen erlaubt die glatte Oberfläche eine Untersuchung des Materials mittels Rasterkraftmikroskopie (Atomic Force Microscopy, AFM), wie in Abbildung 22 gezeigt.

Die AFM-Aufnahmen belegen eine deutliche Veränderung der Oberfläche durch den Pfropfungsprozess. Um auszuschließen, dass es sich um andere Effekte als die Bildung von Pfropfpolymer handelt, wurden Cellophanproben unterschiedlichen Kombinationen der eingesetzten Chemikalien ausgesetzt. Dabei zeigte sich keine entsprechende Veränderung der Oberfläche. Erst unter vollständigen Pfropfbedingungen, also unter Anwesenheit von Cer<sup>IV</sup> und Monomer, wurde eine Änderung beobachtet.

Zusätzlich zu der unten dargestellten topographischen Abbildung liefert das AFM auch Informationen über weitere Oberflächeneigenschaften, wie beispielsweise die Härte des Materials, in Abbildung 23 ausgedrückt als Derjargin-Muller-Toporov (DMT)-Modul (logarithmiert).<sup>72</sup> Die Daten zeigen, dass durch die Pfropfung weichere Bereiche auf der Oberfläche gebildet werden, die deckungsgleich mit den Erhebungen sind. Ohne auf eine quantitative Auswertung zurückzugreifen, kann gefolgert werden, dass es sich bei diesen Punkten um ein von der Cellulose abweichendes Material handelt, vermutlich gepfropftes PGMA.



Abbildung 22: AFM-Aufnahmen der Cellophanoberfläche. Links das Ausgangsmaterial ohne Umsetzung, rechts nach Umsetzung unter Pfropfbedingungen. Die Änderung der Oberflächenstruktur wird auf gepfropftes Polymer zurückgeführt.



Abbildung 23: Abbildung der log(DMT)-Werte der Proben von Abbildung 22. Links das Ausgangsmaterial, rechts das gepfropfte Cellophan. Die DMT-Moduln der Probe deuten darauf hin, dass sich ein weicheres Material auf der Oberfläche gebildet hat.

Mit Hilfe des Programms NanoScope Analysis<sup>73</sup> wurde die prozentuale Oberflächenbelegung durch das Pfropfpolymer bestimmt. Dafür konnten allerdings nicht die Daten der Topographie verwendet werden, da der Algorithmus lediglich Erhöhungen über einem gewissen Grenzwert verwendet. Da das Cellophan aber keine vollständig glatte, sondern eine leicht gewellte Oberfläche hat, führen diese Daten zu fehlerhaften Belegungsgraden, da Punkte, die in Tälern der Überstruktur liegen, nicht oder nicht vollständig gezählt werden, wie in Abbildung 24 gezeigt.



Abbildung 24: Fehlerquelle bei der Bestimmung der Belegung anhand der Topographie. Der Algorithmus registriert alle Erhebungen über einem gewissen Grenzwert (gepunktete blaue Linie). Da das Cellophan im submikroskopischen Maßstab gewellt ist, wird nur ein Teil der Partikel korrekt erfasst (blau), tiefer liegende werden vernachlässigt oder Teile der Oberfläche werden mit ausgewertet (rot hervorgehoben).

Im Gegensatz dazu zeigt der DMT-Modul nur geringe Abweichungen im Ausgangsmaterial, sodass sich dieser besser für die Auswertung eignet. Hier ergibt sich eine Oberflächenbelegung von 12 %. Dieser Wert erscheint relativ klein zu sein, verglichen mit den Ergebnissen der Berechnung der Dichte aus der Molmasse des PMMA.



5 µm

Abbildung 25: Bestimmung der Oberflächenbelegung anhand der Messung des DMT-Moduls. Gezählt wurden alle blauen Pixel. Damit ergab sich eine Oberflächenbelegung von 12 %.

Berechnet wurde eine Polymerdichte, die in einem Bereich liegt, der gemeinhin als Vollbelegung angesehen wird. Um übereinstimmende Ergebnisse zu liefern, müssten die Polymere auf der Cellophanfläche sehr dicht gepackt sein, damit trotz gleicher Gesamtmenge 88 % freie Oberfläche, wie mittels AFM bestimmt, vorliegen könnte.

Wahrscheinlicher ist, dass der Pfropfungsprozess auf Cellophan nicht repräsentativ für die Pfropfung auf Membranen ist. Eine Ursache ist vermutlich die Menge an Flüssigkeit, die die Proben jeweils bei der Imprägnierung aufnehmen können. Im Gegensatz zum Cellophan ist die Cellulose ein poröses Material, sodass beim Eintauchen in die Emulsion ein großes Volumen in der Porenstruktur zur Verfügung steht. Damit befinden sich auch nach dem Entfernen aus der Reaktionsmischung noch signifikante Mengen an Monomer und Cer in der Membran. Dagegen ist die Cellophanoberfläche glatt, sodass sie keine zusätzliche Emulsion aufnehmen kann. Außerdem verdunstet das Lösungsmittel im Schutzgasstrom schneller als im Inneren der Membran, wodurch die Umsetzung früher beendet wird.

In Kombination liefern beide Experimente also einen Maximal- und einen Minimalwert für die Oberflächenbelegung der Membran mit Polymer. Sie sollte zwischen 12 % und vollständiger Belegung sein. Der tatsächliche Wert wird näher an der oberen Grenze angenommen, da die Fehlerquellen bei der Berechnung, wie Verunreinigungen oder Quellung, weniger Auswirkung auf das Ergebnis haben sollten als die geringere Mitnahme an Reaktionsmedium durch das Cellophan. Verschlauftes, nicht kovalent gebundenes Polymer könnte zwar bei längerer Spülung der Membran eventuell ausgewaschen werden, erhöht aber dennoch die Menge an Polymer, die sich in der Membran befindet und im Falle des GMA die Menge, die für Wechselwirkungen zur Verfügung steht.

Da GMA außerdem während der Polymerisation anteilig vernetzt wird, wären solche in Lösung gebildeten Polymere wahrscheinlich ebenfalls kovalent an die Oberfläche gebunden, sodass eine Unterscheidung nicht mehr sinnvoll ist.

## Untersuchung der Polymerdichte anhand von Oligosacchariden

Wie in 4.2.3 dargestellt, sollte die Endgruppe eines Cellulosemoleküls am anomeren Zentrum über 300 mal reaktiver sein als an den C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>-Diolen Da die Endgruppen nur einen minimalen Anteil an der Cellulose haben, könnte eine stark eingeschränkte Reaktivität entlang der Kette negative Auswirkungen auf die Menge an Polymer haben und es wäre nötig, möglichst kurzkettige Cellulosemoleküle einzusetzen um mehr Pfropfpolymer zu bilden. Außerdem ergäbe sich eine ungleichmäßige Verteilung der Pfropfung, da bevorzugt dort Wachstum stattfinden würde, wo Endgruppen vorhanden sind, wohingegen andere Bereiche ohne anomere Zentren eine Verarmung an Polymer zeigen würden.



Schema 18:  $\beta$ -Cyclodextrin, cyclische Verbindung aus sieben Glucosemolekülen, verbunden über  $\beta$ -1,4glycosidische Bindungen.

Dies wurde durch Polymerisation von MMA mit Cer auf  $\beta$ -Cyclodextrin (Schema 18) überprüft. Dabei wurde Polymer mit einer Masse von  $M_n = 2,00 \cdot 10^5$  g mol<sup>-1</sup> in vergleichbarer Ausbeute wie mit Glucose erhalten, sodass bestätigt ist, dass auch völlig ohne das Vorhandensein der freien reaktiven Hydroxy-Funktion des anomeren Zentrums am Ende einer Cellulosekette die Polymerisation stattfinden kann.



Schema 19: Cellobiose, das Dimere der Glucose und analoges Bindungsmotiv zur Cellulose.

Zusätzlich wurde durch Pfropfung auf Cellobiose die Polymerbildung auf der Membranoberfläche weiter untersucht. Cellobiose ist das Dimere der Glucose und entspricht zwei Wiederholeinheiten der Cellulose bei gleicher Verknüpfung über eine  $\beta$ -1,4-glykosidische Bindung.

Das Disaccharid wurde dabei unter analogen Bedingungen umgesetzt wie zuvor die Glucose. Dabei wurde ein Polymer gebildet, das mittels GPC charakterisiert wurde. Anschließend wurde dieses Polymer auf die gleiche Weise zersetzt wie die MMA-gepfropfte Membran unter 5.2.1. Allerdings wurde bei der Neutralisation zu viel Base zugegeben. Dies führte vermutlich zu einer teilweisen Hydrolyse der Methylester des PMMA, wodurch sich ein anderer hydrodynamischer Radius in der GPC ergab. Im Ergebnis vergrößerte sich dadurch scheinbar die Molmasse des Polymers während der Zersetzung. Durch eine anschließende Methylierung mit 3-Methyl-1-(*p*-tolyl)-triazen<sup>74</sup> konnte dies aber behoben werden, wie durch NMR-Spektroskopie bestätigt werden konnte. Die von dieser Probe erhaltene Molmassenverteilung (Abbildung 26) zeigt nunmehr eine Abnahme der mittleren Molmasse und eine Verringerung der Dispersität.



Abbildung 26: Normierte Molmassenverteilung von MMA-gepfropfter Cellobiose (Schwarz,  $M_n = 7,16\cdot10^5$  g mol<sup>-1</sup>, D = 1,79), mit Salzsäure umgesetzter Probe (Rot  $M_n = 8,53\cdot10^5$  g mol<sup>-1</sup>, D = 1,99) sowie anschließend methylierter Probe (Blau  $M_n = 4,80\cdot10^5$  g mol<sup>-1</sup>, D = 1,58). Während der Aufarbeitung wurde das PMMA teilweise hydrolysiert, wodurch die Kalibration der GPC nicht korrekt war. Nach Methylierung verringerte sich die Molmasse entsprechend den Erwartungen.

Durch die Verkleinerung der Molmasse durch die Spaltung der Cellobiose konnte gezeigt werden, dass bei der Polymerisation an Glucose-Derivaten mit Cer<sup>IV</sup> das Kettenwachstum an direkt benachbarten Monomereinheiten stattfinden kann. Dass die Molmasse nach der Zersetzung und Methylierung nicht halbiert wird, wie bei einer symmetrischen Pfropfung zu erwarten, kann dadurch erklärt werden, dass nur ein Teil der Cellobiose zweifach gepfropft wurde. Wie in Schema 20 dargestellt, ändert sich die mittlere molare Masse eines Polymers, bei dem nur eine der beiden Glucose-Einheiten eine Kette trägt, durch die Spaltung nur unwesentlich. Da vermutlich beide Spezies vorlagen, verringert sich die Molmasse also weniger stark, in diesem Fall auf etwa 67 % der Ausgangsmasse.

Da die doppelt gepfropften Cellobiosen Polymeren von größerer Molmasse entsprechen, bewirkt eine Spaltung eine Verringerung der längeren Ketten während die kürzeren, einfach gepfropften unverändert bleiben. Damit verringert sich die Dispersität *Đ*.



Schema 20: Zersetzung von mit MMA gepfropfter Cellobiose. a) Beide Seiten gepfropft, mittlere molare Masse wird durch Spaltung halbiert. b) Nur eine Seite gepfropft, mittlere molare Masse ändert sich nur geringfügig.

Bei diesen und anderen Experimenten wurden sehr niedrige Dispersitäten von  $\mathcal{D} < 2,0$ erreicht, was der theoretische Minimalwert für eine freie radikalische Polymerisation ist, bei der beide Terminierungsmechanismen – Kombination und Disproportionierung – auftreten.<sup>75</sup> Üblicherweise sind für Emulsionspolymerisationen sogar höhere Werte zu erwarten.<sup>67</sup> Eine mögliche Erklärung wäre, dass nur Kombinationsreaktionen auftreten, wodurch der theoretische Wert auf  $\mathcal{D} > 1,5$  fallen würde. Allerdings ist es wenig wahrscheinlich, dass ein Terminierungsmechanismus komplett unterdrückt wird, insbesondere da die Disproportionierung bei MMA der häufigere der beiden Mechanismen ist.<sup>75</sup>

In Emulsionen müssen andere Reaktionsbedingungen berücksichtigt werden als in Lösungen. Es wird angenommen, dass die Polymerisation in den Mizellen stattfindet, solange ein einzelnes Radikal darin enthalten ist. Wenn ein zweites Radikal in die gleiche Mizelle gelangt, tritt Terminierung auf. Wenn diese Reaktion sehr schnell nach dem Eintritt des zweiten Radikals erfolgt, hat dieses nur wenig Zeit Monomer anzulagern und erzeugt dem entsprechend nur eine kurze Kette. Bei der Terminierung durch Disproportionierung würden dadurch also Ketten mit sehr niedrigem Polymerisationsgrad entstehen, die entweder in der GPC-Auswertung nicht als Polymer erkannt werden oder bei der Aufarbeitung nicht mit dem Polymer isoliert wurden.<sup>76</sup>

#### 5.2.3 UNTERSUCHUNG DER VERNETZUNG DES HYDROGELS

Wie bereits in Kapitel 5.2.1 erwähnt, scheint das GMA während der Pfropfung eine Vernetzungsreaktion einzugehen. Als Hinweis wurde dort gewertet, dass nach unterschiedlichen Versuchen zur Zersetzung der Membran kein Polymer isoliert werden konnte. Unterstützt wird dies, da unter ansonsten gleichen Bedingungen mit MMA, das keine Vernetzung eingehen kann, sehr wohl Polymer gefunden wurde.

Auch Versuche, Glucose oder Cellobiose mit GMA zu pfropfen, lieferten ausschließlich einen unlöslichen, stark gequollenen Feststoff. Reis et al. konnten zeigen, dass GMA unter sauren Bedingungen mit den Hydroxyfunktionen eines Polyvinylacetats unter Ringöffnung reagieren kann.<sup>77</sup> Generell sind Epoxide aufgrund ihrer Ringspannung durch nukleophile Substitution leicht angreifbar. Das dabei gebildete Alkoholatanion kann dann wiederum ein weiteres Epoxid angreifen, wodurch eine Polymerisation stattfinden kann,<sup>78</sup> auch wenn im Sauren eine schnelle Protonierung wahrscheinlicher ist. Zusätzlich kann die Epoxid-Öffnung durch Cer<sup>IV</sup> katalysiert werden, was zu einer Hydrolyse führt.<sup>79</sup> Dabei bildet sich ein 1,2-Diol, der wiederum von Cer<sup>IV</sup>-Ionen angegriffen werden kann. Dabei bildet sich analog zur Reaktion auf der Cellulose ein Radikal, sodass eine Verzweigung der Kette stattfindet.

Auch wenn beide in Schema 21 dargestellten Reaktionen nicht bevorzugt sind, reicht schon ein sehr geringer Anteil an verknüpften Monomeren in einer Kette, damit sich ein Netzwerk bildet.



Schema 21: Mögliche Vernetzungsreaktionen des Monomers GMA. a) Nucleophiler Angriff auf das Epoxid: Durch die Ringspannung wird die Bildung eines Alkoholatanions begünstigt. Dies kann wiederum als Nucleophil wirken. b) Cer-katalysierte Hydrolyse führt zur Bildung eines 1,2-Diols, das mit Cer<sup>IV</sup> wie in Schema 8 Radikale bildet.

Zur Überprüfung dieser Vermutung wurde (*tert*-Butoxymethyl)oxiran statt des GMA unter Pfropfbedingungen mit Glucose umgesetzt. Die Verbindung ist nicht in der Lage, radikalisch zu polymerisieren und die sterisch sehr anspruchsvolle *tert*-Butyl-Gruppe sollte auch Polymerisation über das Epoxid erschweren. Nach Ende der Reaktionszeit von 20 Minuten konnte durch NMR und ESI-MS (Elektrosprayionisations-Massenspektrometrie) die Bildung der hydrolysierten Spezies bestätigt werden.



Schema 22: Modellverbindung zur Epoxidöffnung: (tert-Butoxymethyl)oxiran.

Im Massenspektrum tritt ausschließlich die geöffnete Form des Epoxids auf. Dies ist allerdings vermutlich auf die bessere Ionisierbarkeit und damit Detektierbarkeit des Diols zurückzuführen. Eine vollständige Hydrolyse des Epoxids kann ausgeschlossen werden, da dann bei GMA keine Sulfonierung mehr möglich wäre. Aus dem Pfropfgrad, dem Gewicht je Fläche und der ionischen Kapazität kann geschlossen werden, dass maximal etwa 45 % der Epoxide nicht sulfoniert werden.

$$\frac{c_{\rm ionisch}}{n_{\rm Monomer}} = \frac{c_{\rm ionisch}}{m_{\rm Membran} \cdot D_{\rm g} \cdot M_{\rm GMA}^{-1}} = \frac{2.6 \ \mu {\rm mol/cm^{-2}}}{8 \ {\rm mg/cm^{-2}} \cdot 0.15 \cdot 246 \ {\rm g/mol}} \approx 0.45$$
(16)

Dabei ist die Monomermenge  $n_{Monomer}$  und die Masse der Membran  $m_{Membran}$  jeweils auf eine Fläche von 1 cm<sup>2</sup> bezogen.

Da vollständige Umsetzung ausgeschlossen wird, wird die ESI-MS-Messung lediglich als qualitative Bestätigung der Ringöffnung angesehen und keine Aussage daraus auf den Anteil der geöffneten Form abgeleitet.



Abbildung 27: Positives ESI-Massenspektrum des umgesetzten (*tert*-Butoxymethyl)oxirans. Lediglich die geöffnete Form wurde nachgewiesen. 171,1 ist der Molekülionenpeak mit Natriumion, 319,2 ein Dimer, ebenfalls mit Natrium.

Im NMR-Spektrum überlagern sich die Signale des Moleküls mit intaktem Epoxid und die der geöffneten Form. Durch Auswertung der Integrale ist es dennoch möglich, eine relative Konzentration zu bestimmen. Die Zuordnung der Signale erfolgte dabei analog zur Literatur.<sup>80</sup> Das Integral des Signals der tert-Butylgruppe bei 1,04 ppm liefert ein Integral von

10,73 bei Kalibration auf das nur in der Ausgangsverbindung vorkommende Signal 3. Anhand der Strukturformel wird ein Wert von 9 erwartet, sodass sich eine Differenz von 1,73 ergibt. Da die *tert*-Butylgruppe sowohl im Edukt als auch in der hydrolysierten Form dieses Signal zeigen sollte, entspricht diese Differenz dem Integral der 9 Wasserstoffatome der geöffneten Spezies, also 0,19 Äquivalenten. Dies entspricht einer Zusammensetzung der Probe von geschlossenem zu geöffnetem Epoxid von 1:0,19 oder einem Anteil an Ringöffnung von 16 %.

Genauso kann der Anteil über das Integral der Protonen an C3' – C6' von 3,45 – 3,70 ppm berechnet werden. Hier ergibt sich ein Wert von 0,55 für das Integral über insgesamt fünf Wasserstoffatome, entsprechend 0,11 Äquivalenten an geöffneter Spezies. Das Verhältnis von Epoxid- zu Diolform ist also 1:0,11, was einem Anteil von 10 % entspricht.



Abbildung 28: NMR-Spektrum des umgesetzten (*tert*-Butoxymethyl)oxirans. Der Peak bei 1,04 ppm entspricht den Protonen der *tert*-Butylgruppe. Aufgrund der hohen Intensität wurde das Signal abgeschnitten. Durch Vergleich der Signale bei 1,04 ppm und 2,94 ppm oder 3,45 – 3,70 ppm und 2,94 ppm errechnet sich ein Hydrolysegrad von ca. 15 % bzw. 10 %.

Im Mittel aus beiden Werten ergibt sich ein Hydrolysegrad von 13 %. Wenn dieser Wert repräsentativ für das PGMA ist und von diesen nur ein Hundertstel zur Vernetzung zweier Ketten führt, ergäben sich bei einem Polymerisationsgrad von ungefähr 800, wie auf Seite 46 diskutiert, bereits mehr als eine Verknüpfungen pro Kette, was für die Bildung einer vernetzten Spezies ausreicht. Daher ist die Annahme, dass das Polymer bereits während der Pfropfung vernetzt wird plausibel und das Erhalten eines löslichen Polymers nicht möglich. Eine weitere Folge der Vernetzung ist, dass eine Bestimmung der Molmasse des Pfropfpolymers prinzipiell nicht möglich ist. Durch auftretende Verknüpfungen können keine einzelnen Ketten mehr definiert werden, stattdessen muss das gesamte Netzwerk betrachtet werden. Eine Übertragung des Radikals auf das Monomer kann außerdem zur Bildung von freiem, Polymer führen. Durch Vernetzung mit gepfropften Ketten kann dieses ebenfalls an die Oberfläche gebunden werden, sodass auch eine größere Dicke der Pfropfschicht erreicht werden kann, als durch die reine kinetische Kettenlänge möglich wäre.

## 5.3 DER EINFLUSS DER EMULSION AUF DIE MEMBRANEIGENSCHAFTEN

Wie schon bei der Betrachtung der Kettenlänge und Dispersität unter 5.2.1 erläutert, bedeutet die Verwendung einer Emulsion eine erheblich höhere Komplexität der zugrunde liegenden Mechanismen. Zusätzlich dazu ist bei der Verwendung einer Emulsion und eines mikroporösen Materials die Poren- und Tröpfchengröße zu berücksichtigen. Beide sind hier in etwa gleich, der erwartete Durchmesser der Monomertröpfchen liegt bei bis zu 5  $\mu$ m, der Porendurchmesser bei etwa 3 – 5  $\mu$ m.

## 5.3.1 EINFLUSS DER PARTIKELGRÖßE AUF DIE MEMBRANEIGENSCHAFTEN

Da die Größe der Monomertröpfchen in einer Emulsionspolymerisation etwa gleich der Porengröße der Membran ist, ist es fraglich, ob die Monomertröpfchen in die Poren eindringen können oder ob eine Filtration der Emulsion stattfindet, sodass die zusätzliche Monomermenge nicht zur Verfügung steht.

Durch Messungen der Partikelgröße der Emulsion mittels dynamischer Lichtstreuung (*Dynamic Light Scattering*, DLS) konnte der Durchmesser der größeren Partikel auf  $3 - 6 \mu m$  bestimmt werden. Da aber auch eine durch einen  $0,2 \mu m$ -Spritzenfilter filtrierte Emulsion nach ungefähr sieben Minuten im Rahmen der Messgenauigkeit die gleiche Verteilung zeigt, kann davon ausgegangen werden, dass durch das poröse Material kein Größenausschluss erfolgt, sondern sich die Monomertröpfchen auflösen. Würden sich die flexiblen Tröpfchen lediglich verformen, sollte sich direkt nach der Filtration die gleiche Partikelverteilung ergeben. Da die Einstellung der Verteilung allerdings zeitverzögert auftritt, lösen sich die großen Partikel vermutlich beim Durchströmen der Poren auf und bilden sich danach wieder neu. Dies erklärt auch, warum die Mizellengröße direkt nach der Filtration größer ist und dann abnimmt. Wenn die Monomertröpfchen zerstört werden, erhöht sich die Konzentration an Monomer in der wässrigen Phase, die Mizellen nehmen mehr Monomer auf und vergrößern sich. Wenn sich wieder Tröpfchen bilden, sinkt die Konzentration, die Mizellen

geben Monomer ab und nähern sich wieder ihrem thermodynamisch stabileren Durchmesser an.



Abbildung 29: Partikelgrößen der Emulsionen. Rot: Standardemulsion für die Pfropfung mit GMA in Wasser/Emulgator. Schwarz: Filtrat direkt nach der Filtration durch einen 0,2 µm Polyethersulfon-Filter. Blau: Filtrat 20 Minuten nach Filtration.

Um die Annahme, die Filtration habe keinen Einfluss auf die Emulsion, zu überprüfen, wurden Membranen mit der Emulsion vor und direkt nach der Filtration gepfropft. Dabei zeigte sich, dass die Proben in allen Messgrößen (Pfropfgrad, Permeabilität für Wasser und Puffer sowie Kapazität für Ionen und Proteine) übereinstimmen, wie in Tabelle 2 gezeigt.

Tabelle 2: Vergleich der Membranen aus Pfropfung mit filtrierter und nicht-filtrierter Emulsion. Jeweils gemittelt aus vier Einzelwerten mit Angabe der Standartabweichung.

	Dg	$v_{ m Wasser}$	VPuffer	<b>C</b> lonisch	<b>C</b> <sub>Lysozym</sub>	<b>C</b> γ-Globulin
	%	ml min <sup>-1</sup> cm <sup>-2</sup> bar <sup>-1</sup>		µmol cm <sup>-2</sup>	mg cm <sup>-2</sup>	
Blindprobe	13±1	260±20	290±10	2,2±0,1	0,41±0,03	0,33±0,03
Filtrierte Probe	13±1	240±20	280±10	2,2±0,2	0,35±0,03	0,33±0,03

Um auch eine strukturelle Veränderung der Membran auszuschließen, beispielsweise durch eine andere Verteilung des Pfropfpolymers in den Poren, wurden auch die dynamischen Kapazitäten der Proben bestimmt. Auch hier stimmten die Proben miteinander überein, wie in Abbildung 30 gezeigt. Es konnte durch die bisherigen Experimente noch nicht widerlegt werden, dass die Monomertröpfchen bei der Filtration zurückgehalten werden. In diesem Fall müssten sich die größeren Partikel formen, indem sich einzelne Mizellen zu größeren Tröpfchen vereinen oder so viel Monomer aus der Lösung aufnehmen, dass sie auf die entsprechende Größe anschwellen. Dann allerdings müsste die Monomerkonzentration durch die Filtration stark verringert werden, da die Tröpfchen die Mehrheit an Monomer beinhalten.



Abbildung 30: Messung der Dynamischen Kapazität für Lysozym der filtrierten und der nicht-filtrierten Probe. Im Rahmen der Messgenauigkeit zeigen beide Membranen das gleiche dynamische Verhalten.

Um dies zu überprüfen wurde zusätzlich die Monomerkonzentration der Blindprobe und der Probe nach der Filtration verglichen, indem ein Initiator zugegeben und die resultierende Polymermenge gravimetrisch bestimmt wurde. Es wurde festgestellt, dass durch die Filtration kein Verlust an Monomer zu beobachten ist. Dies unterstützt die Annahme, dass sich die Monomertröpfchen auflösen und danach neu bilden.

Allgemein erschwert die Verwendung einer Emulsion die Polymerisation gegenüber dem Arbeiten in Lösung. Da nach der Polymerisation noch immer Emulgator vorhanden ist, wird das Isolieren des Polymers durch Ausschütteln oder Fällen erschwert. Zusätzlich können die klassischen Modelle, wie die ungefähre Vorhersage der zu erwartenden Molmasse aus der Monomer- und Initiatorkonzentration nach (10), nicht uneingeschränkt verwendet werden, da sich die Initiierungs- und Terminierungsschritte ändern. Zu berücksichtigen ist neben den eingesetzten Konzentrationen auch die Anzahl und Größe der Mizellen der Emulsion, da die Diffusion eines zweiten Radikals in eine Mizelle mit bereits wachsender Kette der limitierende Schritt der Terminierung ist. Menge und Volumen der Mizellen sind allerdings nicht nur abhängig von den Konzentrationen der einzelnen Phasen und des Emulgators, sondern auch von der Temperatur der Mischung, dem Druck und der Art der Durchmischung, beispielsweise der Rotationsgeschwindigkeit bei Rührwerken oder der Frequenz bei der Verwendung von Ultraschall zur Erzeugung der Emulsion.<sup>81,82</sup>

Dies alles verkompliziert die Arbeit mit Emulsionen und kann bei Emulsionspolymerisationen zu starker Verbreiterung oder Schwankungen der Molmasse bei ansonsten sehr ähnlichen Bedingungen führen. Allerdings ist aufgrund der geringen Löslichkeit des GMA in Wasser bei dieser Reaktionsführung ein Emulgator zwingend notwendig.

# 5.3.2 Einfluss der Verwendung eines organischen Lösemittels auf die Membraneigenschaften

Um eine Polymerisation bei gleichen Konzentrationen an Monomer und Cer-Salz zu ermöglichen, aber den Emulgator zu vermeiden, wurde eine Pfropfung in einem Isopropanol/Wasser-Gemisch durchgeführt. Aufgrund der schlechten Löslichkeit des Cers in vielen organischen Medien wurde ein Anteil von 40 vol-% Wasser gewählt. Diese Mischung erlaubte gleichzeitig die vollständige Lösung des Cersulfats und des GMAs.

Nach Umsetzung mit dieser Lösung wurden die erhaltenen Membranen charakterisiert und die Ergebnisse mit den Eigenschaften einer mit Emulsion hergestellten Membran verglichen (Abbildung 31). Die Membranen zeigten gegenüber dem Standardmaterial eine verringerte Kapazität bei besseren Permeabilitäten. Zu berücksichtigen ist, dass das Kapazitäts-Permeabilitäts-Verhältnis der ohne Emulsion umgesetzten Membranen besser ist. Durch Verwendung mehrerer Membranlagen würden sich also bessere Ergebnisse erzielen lassen.

Von besonderem Interesse ist, dass das Verhältnis von Permeabilität für Wasser und Puffer bei den in Isopropanol gepfropften sich nur wenig unterscheidet. In Kombination mit der niedrigeren ionischen Kapazität und Proteinbindung deutet dies auf eine geringere Menge an Polymer hin und zusätzlich auf eine stärkere Vernetzung des Materials, wodurch das Hydrogel weniger stark quellen kann.



Abbildung 31: Vergleich der Eigenschaften einer in Isopropanol/Wasser gepfropften Membran mit einer in Emulsion hergestellter. Bemerkenswert an den mit Isopropanol hergestellten Membranen ist die hohe Permeabilität, der geringe Unterschied zwischen den Werten für Wasser und Puffer und der Unterschied der Bindungskapazitäten der beiden Proteine.

Die Abnahme des Bindungsvermögens ist allerdings nicht für alle Bindungspartner gleichmäßig. Bezogen auf die Änderung der ionischen Kapazität nimmt die Kapazität für Lysozym besonders stark ab, während sich die für  $\gamma$ -Globulin nur wenig verändert. Dies führt dazu, dass bezogen auf die Masse mehr von dem größeren Protein gebunden werden kann als von dem kleineren, was ein sehr unerwartetes Ergebnis ist, da üblicherweise das Lysozym mindestens genauso gut oder deutlich besser bindet als das größere.

Eine mögliche Erklärung wäre eine schmalere Verteilung der Kettenlängen der gebundenen Polymere. Obwohl das Hydrogel stark vernetzt sein sollte, sollten dennoch an der Oberfläche einzelne Stränge, die jeweiligen Kettenenden, herausragen. Bei ungleichmäßiger Verteilung entstehen dadurch für das größere Globulin mehr unzugängliche Bereich als für das Lysozym, wodurch mehr von letzterem gebunden werden kann. Bei einer homogeneren Verteilung der Länge der isolierten Enden, wie sie bei höherer Vernetzung und ohne Emulsion eintreten sollte, wäre der Ausschluss entsprechend weniger stark.



Schema 23: Darstellung der Bindung auf unterschiedlich homogenen Oberflächen. Das größere Protein hat keinen Bindungsvorteil bei geringerer Homogenität der Pfropfschicht. Beim Lysozym dagegen werden weitere Bindungsstellen zugänglich.

Aufgrund ihrer unterschiedlichen Massen belegen beide Proteine auch unterschiedlich große Flächen auf der Oberfläche. Bei Annahme einer Kugelform für die Biomoleküle ändert sich das Volumen näherungsweise proportional mit der Masse des Proteins.<sup>83,84</sup> Dagegen verändert sich die Projektionsfläche, entsprechend einer Kreisfläche mit gleichem Radius, mit  $m^{2/3}$ . Insgesamt nimmt die Kapazität für beide Proteine ab, da kein Eindringen in tiefere Schichten mehr möglich ist. Da sich aber die Massen der Proteine stark unterscheiden (ca. 150 kDa Globulin, 14,3 kDa Lysozym), kann von  $\gamma$ -Globulin mehr gebunden werden, wenn beiden Proteinen gleich viel Fläche zur Verfügung steht.

Unter Berücksichtigung der Menge an gebundenem Protein, wie später bei der Diskussion der Bindung in Abschnitt 7.1 erläutert, ist diese Begründung allerdings nicht zufriedenstellend. Dort wird gezeigt, dass, wenn die Oberfläche vollständig belegt ist, etwa 75 Proteine übereinander angeordnet sein müssen, um eine Bindungskapazität von 1 mg Lysozym pro cm<sup>2</sup> zu erreichen.

Eine Bindung wie in Schema 23 ist also nicht realistisch. Eine plausiblere Erklärung ist, dass sich eine wesentlich geringere Polymerdichte einstellt. Wenn zwischen einzelnen Ketten so viel Abstand ist, dass zwischen den gebunden Proteinen noch immer relativ viel der Oberfläche unbelegt bleibt, ergibt sich für größere Proteine eine höhere Kapazität. Die Projektionsfläche ist dann nicht mehr von Bedeutung, da immer ausreichend Platz vorhanden ist. Limitierend wirken die Anzahl und die Länge der Polymerketten, entlang derer sich die Proteine anordnen, wie in Schema 24 dargestellt.

Da bei der angenommenen Kugelform der Radius bzw. der Durchmesser proportional zu m<sup>1/3</sup> ist, werden bei gleicher zur Bindung zur Verfügung stehender Kettenlänge zwar mehr der kleinen Proteine gebunden, allerdings ist ihre Gesamtmasse kleiner als die der größeren.


Schema 24: Alternative Bindung von Proteinen nach der Pfropfung mit Isopropanol. Eine geringere Pfropfdichte verringert die mögliche Kapazität für kleinere Proteine stärker als für größere.

Die Ursache der verringerten Polymerbildung könnte dabei eine Reaktion des Cer<sup>IV</sup>-Salzes mit dem Isopropanol sein. Es ist bekannt, dass diese beiden Komponenten gemeinsam radikalische Polymerisationen initiieren können.<sup>85</sup> Durch diese Reaktion wird möglicherweise ein großer Teil des Cers verbraucht, sodass für die Initiierung auf der Oberfläche nur noch ein Bruchteil der Konzentration zur Verfügung steht wie bei der Pfropfung mit Emulsion.

Das durch Reaktion von Isopropanol und Cer gebildete Polymer dürfte dabei allerdings nicht zu Vernetzung neigen, da es dann nicht ausgewaschen werden könnte und die Poren der Membran dann durch das zusätzliche Polymer wesentlich stärker verblockt sein müssten.

# 6 DESIGN DER HYDROGELSCHICHT DURCH ATRP

Da es mit der Cer-initiierten Pfropfung nur schwer möglich ist, gezielt bestimmte Eigenschaften der Hydrogelschicht zu beeinflussen, wurde auf eine reversibel desaktivierende Polymerisationstechnik zurückgegriffen. Die ATR-Polymerisation verläuft dabei in zwei Schritten: Zuerst wird ein geeigneter Initiator auf die Oberfläche aufgebracht, dann wird von diesem ausgehend polymerisiert. Diese zweistufige Pfropfung – Aktivierung mit Initiator und folgendes Kettenwachstum – erlaubt, die Polymerdichte und –länge unabhängig voneinander einzustellen und so die optimalen Voraussetzungen für die Bindung von Biomolekülen gezielt zu untersuchen.

Während der ATRP-basierten Pfropfung können mehrere Parameter variiert werden, um die Struktur des Hydrogels zu beeinflussen. Die Pfropftemperatur und die Lösungsmittelzusammensetzung wurden bereits untersucht und als ungeeignet für eine effektive Steuerung erkannt.<sup>86</sup> Dagegen kann durch die Menge an aufgebrachtem Initiator sehr effektiv die Anzahl an wachsenden Ketten eingestellt werden und durch die Polymerisationsdauer auch deren Länge.

## 6.1 EINFLUSS DER INITIATORDICHTE AUF DIE EIGENSCHAFTEN DES HYDROGELS

Als Initiator für die ATR-Polymerisation wurde 2-Bromoisobutyrylbromid (2-Bbb) gewählt. Diese Verbindung ist als Säurebromid hoch reaktiv gegenüber Alkoholen und bildet mit diesen unter Abspaltung von Bromwasserstoff Carbonsäureester. Allerdings ist die Verbindung auch sehr empfindlich gegen Wasser, welches zur Bildung der freien Säure führen würde. Daher wird die Reaktion mit der Membran in einem organischen Lösungsmittel durchgeführt.

Schema 25: Freie Vorstufe des ATRP-Initiators: 2-Bromoiso-butyrylbromid (2-Bbb).



Schema 26: Reaktion des 2-Bbb mit Hydroxyfunktionen auf der Oberfläche der Cellulose unter Abspaltung von gelöstem Bromwasserstoff.

2-Bbb wird häufig in der ATR-Polymerisation von Oberflächen verwendet, da es aufgrund seiner hohen Reaktivität unter einfachen Bedingungen umgesetzt werden kann. Dabei wird es auf unterschiedlichen Materialien eingesetzt, wie Filterpapieren aus Cellulose,<sup>87,64</sup> Gold-<sup>88</sup> oder Siliziumoberflächen.<sup>89</sup> Üblicherweise wird eine schwache Hilfsbase zugesetzt, um die gebildete Bromwasserstoffsäure abzufangen. Es zeigte sich allerdings, dass dies unter den in dieser Arbeit verwendeten Bedingungen nicht notwendig ist, sodass darauf verzichtet wird.

#### 6.1.1 Bestimmung der Initiatordichte auf Membran

Die Initiatormenge pro Fläche,  $\delta$ , wurde durch quantitativen Nachweis des Broms bestimmt.<sup>86</sup> Durch Umsetzung der Membran mit wässriger Natronlauge konnte das Bromid an der 2-Position eliminiert werden. Nach Oxidation zu molekularem Brom wurde dieses durch Reaktion mit einem Farbstoff über UV/Vis-Spektroskopie quantifiziert und somit die Menge an gebundenem Initiator auf der Membran bestimmt. Es zeigt sich ein linearer Zusammenhang zwischen der Initiatorkonzentration der Reaktionslösung und der über den Bromidnachweis bestimmten Initiatordichte  $\delta_{\text{Bromid}}$  auf der Membran. Die Werte weisen teilweise erhebliche Schwankungen auf, was auf die Inhomogenität des Ausgangsmaterials zurückgeführt wird. Bei 20 vol-% zeigt sich ein Abfall von  $\delta_{\text{Bromid}}$ . Dies ist vermutlich auf einen Fehler bei der Bestimmung zurückzuführen. Wird eine zu hohe Konzentration an Bromid eingesetzt, zersetzt dieses den bromierten Farbstoff, was eine verringerte Detektion zur Folge hat.

Die Validität der Methode wurde überprüft, indem eine Verdünnungsreihe von 2-Bbb direkt in Natronlauge erstellt wurde. Als Säurebromid liefert die Substanz bei direkter Umsetzung zwei Äquivalente Bromid, je eines durch Hydrolyse und Eliminierung. Dies berücksichtigt, wurden die eingesetzten Konzentrationen korrekt wiedergegeben.



Abbildung 32: Ermittelte Initiatordichten auf der Membran. Das exponentiell verlaufende Prognoseband für 75 % Konfidenz wurde zur Verdeutlichung des beobachteten Trends eingefügt. Die abfallenden Messwerte bei 20 vol-% 2-Bbb sind vermutlich auf eine Fehlbestimmung aufgrund zu hoher Bromkonzentration zurück zu führen.

Auf Membranen angewendet, ergaben sich bei den Umsetzungen Initiatordichten von bis zu 50 μmol g<sup>-1</sup>. Unter Berücksichtigung des Flächengewichts der Membran von 1 g m<sup>-2</sup> lässt sich so eine Durchschnittsfläche pro Initiatormolekül von maximal 3,3 Å<sup>2</sup> errechnen. Verglichen mit der minimalen Projektionsfläche des Moleküls von 28,5 Å<sup>2</sup> (kalkuliert für die freie Säure) zeigt sich, dass dieser Wert um fast das Neunfache zu niedrig ist, um einem Initiatorfragment ausreichend Platz zu bieten.<sup>90</sup>

Da voreingestellte Konzentrationen an Kaliumbromid oder freiem Initiator mit großer Sicherheit bestimmt werden konnten, wird angenommen, dass der Nachweis prinzipiell korrekt ist. Ein Grund für eine zu hohe Initiatorkonzentration kann nicht ausreichende Spülung der Membran nach der Initiierung sein. Dadurch würde freier Initiator in den Poren verbleiben, ohne an die Oberfläche gebunden zu sein. Bei der Zugabe von Natronlauge würden diese Moleküle ebenfalls Bromidionen freisetzten und damit eine höhere Konzentration ergeben, als nur durch die oberflächengebundenen Initiatormoleküle. Dagegen spricht, dass die Membranen gründlich mit unterschiedlichen Lösungsmitteln gespült wurden. Eine andere mögliche Erklärung für die sehr hohe Initiatordichte könnte eine einsetzende Quellung der Membran sein. Zwar ist Dichlormethan, in dem die Initiatorfixierung durchgeführt wurde, kein geeignetes Lösungsmittel für Cellulose, dies ändert sich jedoch, nachdem die Alkohole der Zuckermoleküle umgesetzt wurden. Dadurch werden die einzelnen Fragmente löslich und die Membran würde quellen, was zu einer starken Vergrößerung der Oberfläche und zu einer Erhöhung der erreichbaren Alkohole führen würde, da sie die jeweils oberste Schicht der Membran ablösen würde, wie in Schema 27 skizziert.



Schema 27: Darstellung des Einflusses von 2-Bbb auf die Quellung von Cellulose. Vor der Funktionalisierung ist die vernetzte Membran in Dichlormethan nicht gequollen, die Oberfläche entspricht dem durch BET-Messung bestimmten Wert (links). Durch Funktionalisierung der Hydroxy-Funktionen werden Abschnitte der Cellulose löslich und die Membran beginnt zu quellen (rechts). Tiefer liegende Ketten werden dadurch zugänglich und die Oberfläche nimmt zu.

Um diese Annahme zu überprüfen, wurde eine unvernetzte regenerierte Cellulosemembran in unterschiedliche Initiierungslösungen gelegt. Bei einer Initiatorkonzentration von 20 vol-% wurde das Material nach ungefähr einer Stunde transparent, was darauf hindeutet, dass die Cellulose, die hier nur aus linearen Ketten besteht, tatsächlich von dem Dichlormethan gelöst wurde.

Zur Überprüfung der erhaltenen Dichten wurden Membranen mit 2-Bbb initiiert und MMA mit ATRP gepfropft. Nach Zersetzung analog zur Cer-gepfropften Membran (siehe S. 41) wurde das Polymer isoliert und aus dem Verhältnis der molaren Masse des isolierten Polymers und der Massenzunahme der Membran durch die Pfropfung die Anzahl an wachsenden Ketten bestimmt. Diese entspricht näherungsweise der Dichte an gebundenem Initiator  $\delta_{Molmasse}$ .

[2-Bbb] / vol-%	<i>m</i> <sub>Polymer</sub> / mg	$M_{\rm n}$ / g mol <sup>-1</sup>	$\delta_{ ext{Molmasse}}$ / $\mu  ext{mol}$ g-1	$\delta_{ ext{Molmasse}}$ : $\delta_{ ext{Bromid}}$
10	72	3,58 · 104	7,89	0,20
5	40	3,02 · 104	6,32	0,16
1	3,4	2,64 · 104	7,25	0,22

Tabelle 3: Ausgewählte Initiatorkonzentrationen, bestimmt aus der molaren Masse isolierten Polymers und Vergleich mit erwartetem Wert aus Bromidbestimmung.

Aus den oben angegeben Werten errechnen sich durchschnittliche Flächen pro Kette von 0,2 nm<sup>2</sup> (10 vol-%), 0,3 nm<sup>2</sup> (5 vol-%) und 2,3 nm<sup>2</sup> (1 vol-%) gegenüber 2,6 nm<sup>2</sup> bei der Cerinitiierten Pfropfung.

Es zeigt sich, dass  $\delta_{Molmasse}$  über sämtliche Messungen gemittelt etwa 18 % des jeweiligen  $\delta_{Bromid}$  entspricht. Es ist zu berücksichtigen, dass über beide Methoden nur Proben verglichen werden können, die unter gleichen Bedingungen aktiviert wurden. Da beide Methoden destruktiv sind, ist es nicht möglich, dieselbe Probe auf beide Arten zu untersuchen. Zusätzlich gelten die oben angesprochenen möglichen Fehler.

Das Abweichen der  $\delta_{Molmasse}$  zu kleineren Dichten entspricht dennoch den Erwartungen, da bei oberflächeninitiierter Polymerisation gewöhnlich nicht alle vorhandenen Initiatormoleküle zu einer Polymerisation führen, beispielsweise durch sterische Hinderung von benachbarten, bereits wachsenden Ketten oder ähnlichem. Die hier bestimmten Verhältnisse sind in guter Übereinstimmung mit den in der Literatur diskutierten Initiatoreffektivitäten.<sup>71,88,91</sup>

Da das 2-Bbb aufgrund seiner Struktur zur Eliminierung des 2-Broms neigt, besteht die Gefahr, dass einige Initiatormoleküle zwischen Aktivierung und Polymerisation abgebaut werden. Für die Untersuchung der Einflüsse der Dichte auf die Membraneigenschaften würde dies eine Verfälschung der Ergebnisse bedeuten, da nicht alle gleichzeitig initiierten Proben auch zur gleichen Zeit weiter umgesetzt wurden, sodass noch unterschiedlich viel Initiator vorhanden sein könnte. Damit könnten sich für später umgesetzte Proben niedrigere Initiatordichten ergeben. Für eine mögliche Anwendung wäre ein Abbau der Brom-Spezies ebenfalls störend, da die eigentlich unabhängigen Prozessschritte Aktivierung und Polymerisation dann in enger zeitlicher Abfolge durchgeführt werden müssten.



Abbildung 33: Bestimmung der Initiatordichten gleichzeitig umgesetzter Proben nach unterschiedlicher Zeit. Es wurde jeweils zwei Werte gemittelt. In Anbetracht der niedrigen Probenanzahl und der auftretenden Schwankungen kann die Initiatorkonzentration im betrachteten Zeitraum als stabil angesehen werden.

Abbildung 33 zeigt die Initiatordichten unterschiedlicher Proben. Die Aktivierung erfolgte dabei zum gleichen Zeitpunkt, die Bestimmung dagegen zeitlich versetzt. Unter Berücksichtigung der erhaltenen Schwankungsbreite der Dichten aus Abbildung 32 und der geringen Probenanzahl von jeweils zwei pro Messpunkt können die Initiatordichten im betrachteten Zeitraum als konstant angenommen werden. Damit sollte sich auch im Folgenden die jeweils eingestellte Initiatorkonzentration bis zur Durchführung der Pfropfung nicht verändert haben und damit korrekte Abhängigkeiten liefern.

#### 6.1.2 ABHÄNGIGKEIT DER POLYMERDICHTE VON DER INITIATORKONZENTRATION

Als Lösungsmittel wurde ein Wasser/Isopropanol-Gemisch im Verhältnis von 1:2 gewählt. Dieses ist eine technisch unbedenkliche Kombination und erlaubt eine hohe Monomerkonzentraion. Durch den hohen Wasseranteil wird die Bildung der Kupfer(II)-Spezies begünstigt. Dadurch findet weniger Deaktivierung statt, die Polymerisation beschleunigt sich und die Kontrolle geht verloren.<sup>92</sup> Um diesen Effekt zu kompensieren wurde 2,2'-Bipyridyl ausgewählt, da es ein weniger reaktiver Ligand ist.<sup>40</sup> Dadurch wird der Kupfer(I)-Komplex stabilisiert und die reversible Deaktivierung wieder verstärkt.



Abbildung 34: Verwendeter Kupferkomplex Di(2,2'-Bipyridyl)Kupfer(II).

# AFM-Untersuchung der Initiatordichte an Cellophan

Ähnlich zu der Untersuchung der mit Cer erhaltenen Pfropfdichte an Cellophanfolie (siehe Abschnitt 5.2.2) wurde auch das 2-Bbb/ATRP-System an diesem nicht-porösen Material untersucht. Zuvor wurde bereits erläutert, dass diese Oberfläche bei Umsetzung durch Imprägnierung weniger Reaktionslösung aufnehmen kann, da kein Porenvolumen zur Verfügung steht. Dadurch trocknet das Cellophan schneller und es können sich andere Konzentrationen und Polymerverteilungen einstellen. Dieses Problem wurde hier umgangen, indem die Folien während der Reaktionszeit mit dem 2-Bbb in Lösung eingetaucht blieben, entsprechend der Umsetzung der Membranen. Während der Polymerisation verblieben sie die ganze Reaktionszeit über in der Lösung. Diese Behandlung sollte also repräsentativere Ergebnisse liefern.

Erste Experimente wurden mit MMA durchgeführt. Die Messungen mit AFM zeigten eine deutliche Änderung der Oberfläche mit zunehmender Initiatorkonzentration. Bei geringer Funktionalisierung (Abbildung 35a, 1 vol-% 2-Bbb) resultierte eine unvollständige Oberflächenbelegung, bei höherer (Abbildung 35b, 10 vol-% 2-Bbb) bildete sich eine geschlossene Schicht an Partikeln. Bei weiterer Erhöhung der Initiatorkonzentration (Abbildung 35c, 20 vol-% 2-Bbb) ergab sich keine Änderung der Oberfläche.



Abbildung 35: AFM-Untersuchung von unter ATRP-Bedingungen mit MMA-gepfropftem Cellophan. Initiatorkonzentration: a) 1 vol-%, b) 10 vol-%, c) 20 vol-%. Die Polymerisationszeit betrug jeweils eine Stunde.

Die Bildung der runden Strukturen auf dem Cellophan entspricht dem Verhalten von MMA bei Pfropfung auf Goldoberflächen.<sup>88</sup> Dort liefert eine weitere Erhöhung der Initiatorkonzentration relativ glatte Oberflächen, die hier nicht erhalten wurden. Auch eine längere Polymerisationszeit von 4 h statt 1 h ändert die Morphologie nicht mehr.

Das Experiment wurde mit GMA statt MMA und teilweise veränderten Konzentrationen wiederholt. Hierbei zeigte sich eine deutlich andere Struktur der Oberfläche. Bei extrem niedriger Initiatordichte (Abbildung 36a, 0,01 vol-% 2-Bbb) zeigen sich einzelne Erhebungen, die sich über Kugeln wie beim MMA (Abbildung 36b, 0,1 vol-% 2-Bbb) zu einer homogenen Oberfläche wandeln (Abbildung 36c, 1 vol-% 2-Bbb). Dass dies schon bei einer niedrigeren Initiatorkonzentration als beim MMA erreicht wurde, kann darauf zurück geführt werden,

dass GMA zum einen schneller polymerisiert<sup>88</sup> und zum anderen möglicherweise gebildetes Homopolymer durch Vernetzung an die Oberfläche binden kann.



Abbildung 36: AFM-Untersuchung von unter ATRP-Bedingungen mit GMA-gepfropftem Cellophan. Initiatorkonzentrationen a) 0,01 vol- %, b)0,1 vol-%, c)1 vol-%, d) 10 vol-%, Die Polymerisationszeit betrug jeweils eine Stunde.

Für die Pfropfung auf Membran lässt sich aus den Ergebnissen schließen, dass bereits bei sehr niedriger Initiatorkonzentration eine dichte Oberflächenbelegung erreicht werden kann. Zu berücksichtigen ist, dass bei der Reaktion auf Membran eine wesentlich größere Oberfläche eingesetzt wird, die bei gleichen Abmessungen aufgrund der porösen Struktur 80-mal größer ist. Insgesamt liegt, bezogen auf die Masse der Membran, das 2-Bbb aber noch immer in einem großen Überschuss vor.

In den Poren ist das verfügbare Volumen an Reaktionslösung allerdings deutlich begrenzt und aufgrund der kurzen Reaktionszeit von fünf Minuten kann auch nicht davon ausgegangen werden, dass durch Diffusion eine schnelle Nachführung des Initiators gewährleistet ist. Für die Initiatorimmobilisierung bedeutet dies, dass, im Vergleich mit der oben gezeigten Reaktion auf Cellophan, eine vollständige Oberflächenfunktionalisierung erst bei höherer Initiatorkonzentration erreicht werden könnte.

#### 6.1.3 EINFLUSS DER POLYMERDICHTE AUF DIE MEMBRANEIGENSCHAFTEN

Um die Abhängigkeit der Membraneigenschaften wie Permeabilität und Bindungskapazität von der Kettendichte zu bestimmen, wurden Pfropfreihen mit unterschiedlich stark initiierten Proben durchgeführt. Die Dichte wurde durch Variation des Volumenanteils an 2-Bbb bei der Aktivierung der Membran eingestellt und durch die Bestimmung des gebundenen Broms überprüft (siehe S. 65).



Die Abhängigkeit des Pfropfgrades von der Polymerdichte

Abbildung 37: Abhängigkeit des Pfropfgrades von der Initiatordichte für ausgewählte Polymerisationszeiten mit linearen Regressionen. Hervorgehoben sind Initiatordichten, die vermutlich zu niedrig bestimmt wurden (siehe Abschnitt 6.1.166). Diese wurden auch nicht für die Ausgleichgraden herangezogen. Die Steigungen der Ausgleichsgeraden sind 4,16 · 10<sup>-3</sup> % µmol<sup>-1</sup> g für 10 min, 1,13 · 10<sup>-4</sup> % µmol<sup>-1</sup> g für 85 min und 1,29 · 10<sup>-4</sup> % µmol<sup>-1</sup> g für 120 min.

Nach der Polymerisation mit GMA und der Sulfonierung wurde der Pfropfgrad bestimmt und gegen die Konzentration an oberflächengebundenem Initiator aufgetragen.

Nach Gleichung (17) sollte der Monomerverbrauch -d[M] bei gleicher Polymerisationszeit d*t* mit steigender Konzentration an ruhender Spezies [P<sub>n</sub>-X], also dem gebundenen 2-Bbb, zunehmen.<sup>40</sup> Die anderen Parameter, die Monomerkonzentration [M], die Konzentrationen der Kupferkomplexe [Cu<sup>1</sup>/L] und [X-Cu<sup>11</sup>/L] sowie die Wachstumsgeschwindigkeitskonstante  $k_p$  und die ATRP-Gleichgewichtskonstante  $K_{ATRP}$  sollten dabei konstant bleiben.

$$-\frac{\mathrm{d}[\mathrm{M}]}{\mathrm{d}t} = R_{\mathrm{p}} = k_{\mathrm{p}} K_{\mathrm{ATRP}} \left(\frac{[\mathrm{P}_{n} \mathrm{X}][\mathrm{Cu}^{\mathrm{I}}/\mathrm{L}][\mathrm{M}]}{[\mathrm{X}-\mathrm{Cu}^{\mathrm{II}}/\mathrm{L}]}\right)$$
(17)

Eine erhöhte Polymerisationsgeschwindigkeit  $R_p$  bedeutet eine Erhöhung der gebildeten Polymermenge, und zwar in linearer Abhängigkeit der Konzentration der ruhenden Spezies [ $P_nX$ ], die zu Beginn der Reaktion der Konzentration des Initiators entspricht. Dieser Zusammenhang wird in den linearen Verläufen der Ausgleichsgeraden in Abbildung 37 deutlich. Der hier aufgetragene Pfropfgrad entspricht der auf die Anfangsmasse der Membran normierten Polymermasse, spiegelt also die Zunahme des Umsatzes direkt wieder.

Da die gemessenen Initiatordichten bei hoher 2-Bbb-Konzentration als fehlerhaft angesehen werden müssen, wird im Folgenden als Referenzgröße die eingesetzte Konzentration an 2-Bbb verwendet.



Abbildung 38: Pfropfgrad der Membranen in Abhängigkeit der eingesetzten Konzentration von 2-Bbb. Ab einem bestimmten Wert zeigt sich ein Abflachen des Polymerwachstums.

Wie ersichtlich ist, steigen die Pfropfgrade bei Konzentrationen von mehr als 10 vol-% 2-Bbb nicht weiter an. Es scheint, als sei bei diesem Wert, zumindest bei großer Polymerlänge, eine Vollbelegung der Oberfläche erreicht. Bei kürzerer Polymerisationszeit steigt der Pfropfgrad auch noch zwischen 10 und 20 vol-%, vermutlich weil hier der sterische Anspruch der Polymere noch weniger groß ist.

Die weiter oben diskutierte Abhängigkeit der Polymerisationsgeschwindigkeit von der Initiatorkonzentration gilt entsprechend auch nur für den Bereich der niedrigeren Initiatorkonzentration vor dem Abflachen.



## Die Abhängigkeit der Permeabilität von der Polymerdichte

Abbildung 39: Spezifische Permeabilität der Membranen in Abhängigkeit der eingesetzten Konzentration von 2-Bbb. Angegeben sind die Werte für Messungen mit Kaliumphosphatpuffer (ausgefüllte Symbole) und Wasser (leere Symbole).

Ungefähr solange die Pfropfgrade, wie in Abbildung 38 zu sehen, stark zunehmen, zeigt sich ein Abfall der Permeabilität, die danach wieder etwas ansteigt. Dabei ändert sich der Unterschied zwischen der Permeabilität für Wasser und der für Puffer nicht.

Möglicherweise werden durch die zunehmende Dichte an Polymeren auf der Membran diese gezwungen, sich mehr zu strecken anstatt geknäult zu bleiben um weniger Fläche einzunehmen. Dadurch erhöht sich die Dicke des Polymerfilms, der Porenradius verringert sich und die Permeabilität nimmt ab.



Schema 28: Darstellung der Anordnung des Polymers bei unterschiedlicher Kettendichte. Bei geringer Belegung können die Polymere sich auf der Oberfläche zusammen knäulen, die Gelschicht bleibt schmal. Durch engere Oberflächenbelegung werden die Ketten in eine gestreckte Form gezwungen, die Gelschicht wird dicker.

Außerdem besteht die Möglichkeit, dass bei höherer Konzentration bei der Bindung des Initiators so viel Bromwasserstoff freigesetzt wird, dass in einem signifikanten Maße der Abbau der Cellulose beginnt. Wenn nahe der Oberfläche ein ausreichend niedriger pH-Wert erreicht wird, könnte die Cellulose teilweise hydrolysiert werden, sodass der Porenradius vergrößert wird. Damit wäre allerdings zu erwarten, dass bei 20 vol-% Initiator ein stärkerer Abbau stattfindet, sodass die Permeabilität noch deutlich weiter steigen sollte, stattdessen scheint ab 10 vol-% ein konstanter Wert erreicht zu sein. Der Unterschied der Permeabilität ist allerdings auch schon früher, über 5,5 vol-% Initiator, nicht mehr sehr groß, weswegen die Signifikanz dieser Änderung in Frage gestellt werden muss.

Die Permeabilitäten werden in Lösungsmitteln ermittelt, die bei dem Pfropfpolymer eine sehr starke Quellung hervorrufen, sodass sie in einer deutlich gestreckten Form vorliegen sollten, unabhängig von der Dichte auf der Oberfläche.<sup>93</sup> Im trockenen Zustand dagegen kollabiert das Hydrogel, sodass es nur ein minimales Volumen besitzt. Im Gegensatz zu Cer-gepfropften Membranen zeigen die ATRP-gepfropften allerdings auch im trockenen Zustand eine deutliche Verengung des Porendurchmessers, wie unten mittels REM gezeigt.



Abbildung 40: REM-Aufnahmen von ATRP-gepfropfter Membran. Zum Vergleich sind oben Cer-gepfropfte Membranen gezeigt, jeweils die glatte Seite – a), c) – und die raue Seite – b), d). Die Membran auf den Bildern c) und d) wurde mit 5,5 vol-% 2-Bbb initiiert und unter den hier standardmäßig verwendeten ATRP-Bedingungen für 120 min gepfropft, der Pfropfgrad lag bei ca. 50 %.

Dies unterstützt die Annahme, dass hier ein Knäulen des Polymers nicht mehr möglich ist. Auf Seite 68 wurde die einer Kette zur Verfügung stehenden Fläche berechnet und bei einer Initiatorkonzentration von 5 % ein Wert von 0,3 nm<sup>2</sup> bestimmt. Damit müssen die Ketten auch ohne Lösungsmittel gestreckt vorliegen, sodass der Porenradius sich auch im Hochvakuum signifikant verringert. Bei der Cer-initiierten Pfropfung liegt die Fläche dagegen bei 2,6 nm<sup>2</sup>, sodass eine Knäulung im Trockenen leicht auftreten kann.

Es sei hier nochmals darauf hingewiesen, dass für die ATRP-Proben sehr hohe Polymer- und Initiatordichten bestimmt wurden. Die entsprechende Diskussion findet sich auf Seite 66.

## Die Abhängigkeit der Bindungskapazität von der Polymerdichte

Die ionische Kapazität wird über der Menge an Ionen, die von dem geladenen Polymer gebunden werden können, bestimmt. Da diese Ionen sehr klein und nur einfach geladen sind, müssen keine besonderen Effekte wie Größenausschluss oder Ladungsverteilung berücksichtigt werden und die ionische Kapazität entspricht dem Verlauf des Pfropfgrades, inklusive einiger Abweichungen zu niedrigeren Werten bei 7,75 vol-% 2-Bbb.



Abbildung 41: Ionische Kapazitäten in Abhängigkeit von der eingesetzten Konzentration an 2-Bbb. Es zeigt sich bei allen Kurven ein deutliches Abflachen.

Die ionische Kapazität wird durch Titration der im Polymer vorhandenen Sulfonsäuregruppen bestimmt. Dafür wird das Natriumsalz der Sulfonsäuren durch Spülen mit Salzsäure in die protonierte Form gebracht. Da diese Gruppen einen niedrigen p $K_s$ -Wert haben, dissoziieren sie leicht wieder, sodass beim Durchspülen mit Natriumchlorid-Lösung wieder die Natriumsalze gebildet werden. Durch die abgegebenen Wasserstoffionen wird der pH-Wert der Lösung verringert, was sehr exakt durch Titration bestimmt werden kann.

Die beteiligten Mechanismen sind schnell und durch den hohen Überschuss an Säure und Salz beim Spülen ist auch die Zugänglichkeit aller Gruppen durch Konvektion und Diffusion gegeben, sodass die Ergebnisse der Titration im Allgemeinen verlässlicher sind als die der Bestimmung der Pfropfgrade durch Wiegen.



Abbildung 42: Lysozym-Bindungskapazitäten in Abhängigkeit der eingesetzten Initiatorkonzentration. Es zeigt sich ein Maximum an Bindungskapazität.

Die Proteinbindung auf ATRP-gepfropften Membranen zeigt einen deutlich anderen Verlauf als die ionische Kapazität. Für die Bindung von Lysozym zeigt sich ein Maximum bei geringer Initiatorkonzentration. Das Optimum liegt dabei zwischen 3 vol-% und 5 vol-%. Die dabei erzielten Kapazitäten liegen teilweise deutlich über dem mit Cer erreichbaren Wert von 1,0 mg cm<sup>-2</sup>.

Für das größere Protein  $\gamma$ -Globulin zeigen sich prinzipiell die gleichen Verläufe. Unter den gewählten Bedingungen sind die Kapazitäten mit einer Ausnahme sogar durchgängig und bis zu drei Mal höher als bei der klassischen Pfropfung mit Cer, wo durchschnittlich Bindungen von 0,5 mg cm<sup>-2</sup> erreicht werden.

Dass die Lage des Maximums je nach Polymerisationszeit leicht unterschiedlich ist und die Kapazitäten direkt davor oder danach deutlich abweichen (beispielsweise 102,5 min und 120 min im Vergleich), deutet darauf hin, dass hier tatsächlich ein relevanter Effekt beobachtet wird. Ein Messfehler oder eine statistische Schwankung würde eine zufällige Lage des Maximums bewirken, was hier nicht beobachtet wird. Auch ein Fehler bei der Aktivierung der Membranen ist unwahrscheinlich, da dann alle Proben bei der gleichen Initiatordichte das Maximum aufweisen sollten.

Da dieser Verlauf bei unterschiedlichen Proteinen und unterschiedlichen Experimenten auftritt, sind Messfehler sehr unwahrscheinlich.



Abbildung 43: Bindungskapazität von γ-Globulin in Abhängigkeit der eingesetzten Initiatorkonzentration. Es zeigt sich ein Maximum an Bindungskapazität, analog zur Kapazität von Lysozym.

Grundsätzlich beruht die Rückhaltung von Ionen und Proteinen auf den gleichen Prinzipien, der Anziehung entgegengesetzter Ladungen. Da dennoch wenig Ähnlichkeit zwischen den Abhängigkeiten von der Kettendichte besteht, muss diese einfache Betrachtung erweitert werden.

Um ein besseres Modell der Bindung von großen Biomolekülen an die Membranoberfläche zu entwickeln, sollen die hier gewonnen Daten mit der Abhängigkeit der Kapazität der Kettenlänge verknüpft und so ein umfassendes Bild generiert werden.

Die Bindung der Proteine an die Membran wird nach Erläuterung des Einflusses der Polymerisationszeit weiter diskutiert.

## 6.2 EINFLUSS DER KETTENLÄNGE AUF DIE EIGENSCHAFTEN DES HYDROGELS

Neben der Dichte an gepfropftem Polymer sollte die Länge der Ketten die Struktur des Hydrogels entscheidend beeinflussen. Der Erwartung nach sollte diese bei einer reversibel deaktivierten Polymerisation linear abhängig von der Polymerisationszeit sein. Dies und die Auswirkung unterschiedlicher Polymerisationsgrade auf die Eigenschaften der Membran soll im Folgenden untersucht werden.

#### 6.2.1 NACHWEIS DER KETTENLÄNGENABHÄNGIGKEIT VON DER POLYMERISATIONSZEIT

Um die zeitliche Entwicklung der Molmassen zu analysieren, wurde Glucose mit dem Initiator 2-Bbb umgesetzt und anschließend mit dem oben beschriebenen System polymerisiert. Nach unterschiedlichen Zeiten wurden Proben entnommen und die Molmassen bestimmt. Es zeigte sich, dass die einzelnen Werte eine schmale Molmassenverteilung um D = 1,3 aufweisen. Dies deutet auf eine erfolgreiche Kontrolle der Polymerisation hin. Wie für ATRP erwartet, sind die Molmassen auch bei höherer Polymerisationszeit niedriger als bei der Polymerisation mit Cer, da durch die reversible Deaktivierung die Wachstumsgeschwindigkeit verringert wird.



Abbildung 44: Ausgewählte Molmassenverteilung der ATR-Polymerisation auf Glucose nach 45 min Reaktionszeit ( $M_n = 1,63 \cdot 10^5$  g mol<sup>-1</sup>, D = 1,26) im Vergleich mit Cer initiierter Pfropfung auf Glucose ( $M_n = 3,7 \cdot 10^5$  g mol<sup>-1</sup>, D = 3,1). Die geringe Dispersität der ATRP-Probe deutet auf eine reversibel deaktivierte Polymerisation.

Ein wichtigeres Kriterium als die niedrige Dispersität für eine tatsächliche reversibel deaktivierte Polymerisation ist das lineare Wachstum der Kettenlänge mit der Polymerisationszeit, also eine Zunahme der mittleren Molmasse. In Abbildung 45 sind die mittleren Molmassen und Dispersitäten nach unterschiedlichen Reaktionszeiten aufgetragen. Alle Messpunkte zeigen eine niedrige Dispersität, wie bereits oben erwähnt. Zudem zeigt sich eine Zunahme der Massen mit der Zeit. Allerdings weicht dieses Verhalten bei GMA stark von einem linearen Verlauf ab. Anhand der eingesetzten Konzentrationen an Monomer und Initiator lässt sich berechnen, dass bei etwa  $1,5 \cdot 10^5$  g mol<sup>-1</sup> ein vollständiger Umsatz stattgefunden hat. Dieser Wert wird von GMA bereits nach 25 min erreicht. Dies ist ein unerwarteter Effekt, insbesondere verglichen mit den Molmassen, die in der gleichen Zeit mit MMA erreicht wurden. Dass GMA mit ATRP sehr schnell polymerisiert, ist aber durchaus literaturbekannt. Es wurde vermutet, dass durch den Austausch eines Bipyridin-Liganden am Kupfer durch das Epoxid des GMAs die Reaktivität des Katalysators erheblich gesteigert wird, was zu einer Beschleunigung des Kettenwachstums führt.<sup>88</sup>



Abbildung 45: Auftragung der Molmassen und Dispersitäten gegen die Polymerisationszeit für Polymerisationen von GMA und MMA. Das GMA zeigt eine erheblich höhere Wachstumsgeschwindigkeit, sodass das Monomer bereits nach 25 min verbraucht ist, wodurch kein weiteres Wachstum stattfindet. Beide Datenreihen zeigen Kennzeichen einer reversibel desaktivierten Polymerisation.

Für beide Monomere kann dennoch anhand der zeitlichen Entwicklung der Molmassen auf eine reversibel desaktivierte Polymerisation geschlossen werden, wenn auch bei GMA nur im Bereich bis 25 min.

Um dieses Verhalten auch bei der Anwendung des Systems auf Membranen zu überprüfen, wurden Membranen mit unterschiedlichen Mengen an 2-Bbb initiiert und für unterschiedlich lange Zeiten mit MMA gepfropft. Die Ergebnisse sind in Abbildung 46 gezeigt. Dabei ergab sich eine Zunahme des Pfropfgrades sowohl mit der Initiatorkonzentration, wie oben diskutiert, als auch mit der Reaktionszeit. GMA wurde hier nicht verwendet, da aufgrund von Vernetzung der Polymere durch Epoxidöffnung eine Isolierung nicht erfolgversprechend gewesen wäre.



Abbildung 46: Auftragung der Pfropfgrade mit MMA unter ATRP-Bedingungen umgesetzter Membranen bei unterschiedlichen Zeiten und Initiatorkonzentrationen. Unter den gewählten Bedingungen zeigen sich lineare Zusammenhänge von Pfropfgrad und Polymerisationszeit.

Die Zunahme des Pfropfgrades mit der Initiatorkonzentration entspricht einer Erhöhung der Polymerisationsgeschwindigkeit, wie auf Seite 74 86diskutiert. Da der Pfropfgrad ebenfalls abhängig von der Polymerisationszeit ist, liegt nahe, dass auch auf Membranen eine kontrollierte Polymerisation stattfindet. Eine sukzessive Reaktion weiterer Initiatormoleküle, die jeweils eine unkontrollierte Polymerisation initiieren, ist allerdings ebenfalls möglich. Dadurch könnte ebenfalls eine Zunahme des Pfropfgrades mit der Zeit erfolgen. Um die Kontrolle der Pfropfung unter diesen Bedingungen nachzuweisen, wurden die Membranen zersetzt und die Pfropfpolymere isoliert. Dabei wurde ein analoges Vorgehen zu den Cer-gepfropften Proben gewählt (siehe S. 42).

Die dabei erhaltenen Daten bestätigen den reversibel deaktivierten Charakter der Umsetzung. Die Polymere zeigen bei den gewählten Initiatorkonzentrationen niedrige Dispersitäten und eine Zunahme der mittleren molaren Massen mit der Zeit, wie aus Abbildung 47 zu entnehmen.



Abbildung 47: Molmassen und Dispersitäten der isolierten Polymere von mit MMA gepfropften Membranen bei unterschiedlichen Reaktionszeiten und Initiatorkonzentrationen. Die Proben weisen eine niedrige Dispersität auf und eine lineare Zunahme der molaren Masse mit der Zeit.

Für die mittlere Initiatorkonzentration konnte bei der kürzesten Polymerisationszeit kein Polymer in ausreichender Menge isoliert werden. Aufgrund der sehr geringen Reaktionszeit ergab sich lediglich ein Pfropfgrad von etwa zwei Prozent. Obwohl vier identische Membranen zersetzt wurden, konnte von den erwarteten 17 mg Polymer nach der Zersetzung nichts isoliert werden. Prinzipiell ist die angewendete Methode allerdings dennoch auch für kleine Pfropfgrade geeignet, da bei den Membranen, die mit 1 vol-% 2-Bbb für eine Stunden umgesetzt wurden, nach der Zersetzung von sechs Membranen und einer erwarteten Polymermasse von lediglich 2,6 mg eine analysierbare Menge gewonnen werden konnte.

Die Dispersitäten nehmen bei den kürzesten Reaktionszeiten höhere Werte bis über 3 an und fallen danach auf einen Wert um 1,6. Dieses Verhalten ist bekannt für reversibel deaktivierte Polymerisationen und ist darauf zurückzuführen, dass bei kurzer Kettenlänge ein Unterschied von wenigen Monomereinheiten eine größere Abweichung von  $M_w$  und  $M_n$  bewirkt, wodurch D größer wird. Bei voranschreitender Polymerisation gleichen sich die Ketten stärker aneinander an und die Dispersität nimmt ab.<sup>44,94,95</sup>

Auch bei längeren Reaktionszeiten bleiben die Dispersitäten des gepfropften PMMAs über denen des PMMAs, das frei in Lösung mit dem gleichen System polymerisiert wurde. Zudem zeigt sich eine wesentlich schnellere Polymerisationsgeschwindigkeit des MMAs auf der Membran. Während die erhöhte Dispersität mit inhomogenen Bedingungen auf der Oberfläche und in der Porenstruktur begründet werden kann, ist dies für die erhöhte Wachstumsgeschwindigkeit nicht möglich.

Behling *et al.* entwickelten für diese Beobachtung eine Hypothese, wonach sich die Konzentrationen an der Oberfläche bei hoher Polymerdichte entscheidend von der Reaktion in Lösung unterscheiden und andere Mechanismen auftreten können.<sup>96</sup>

Bei der oberflächeninitiierten Polymerisation befinden sich alle Radikale in einer Front, die mit dem Polymer von der Oberfläche in die Lösung hineinwächst. Außerhalb dieses sehr begrenzten Bereichs treten keine Radikale auf, sodass auch alle Reaktionen mit den [Cu-X]und [Cu-X<sub>2</sub>]-Komplexen hier stattfinden müssen. Trifft ein Radikal innerhalb der Schicht auf ein [Cu-X<sub>2</sub>], wird ein Bromatom übertragen und die Kette deaktiviert. Das gebildete [Cu-X] erhöht die lokale Konzentration an Aktivator und reagiert aufgrund der sehr großen lokalen Konzentration an Endgruppen innerhalb kürzester Zeit wieder mit einer schlafenden Kette, bevor die Konzentrationsänderung durch Diffusion ausgeglichen werden kann, sodass die Neubildung von aktiven Ketten beschleunigt wird.



Schema 29: Beschleunigung des Polymerwachstums an dichten Oberflächen. Aufgrund der hohen lokalen Konzentration an Endgruppen reagiert gebildetes CuBr sehr schnell wieder mit deaktivierten Polymeren. CuBr<sub>2</sub> kann dagegen nicht sofort wieder reagieren, da die Dichte an wachsenden Ketten sehr viel kleiner ist. Dadurch beschleunigt sich das Polymerwachstum.

Die gleiche Überlegung gilt allerdings nicht für den umgekehrten Fall, dass das nach Aktivierung einer Kette gebildete [Cu-X<sub>2</sub>] sehr schnell wieder mit einer wachsenden Kette reagieren kann, da deren Konzentration in der Polymerfront wesentlich geringer ist. Daher hat die erhöhte Konzentration an [Cu-X<sub>2</sub>] keinen Einfluss auf die Deaktivierung.

Effektiv erhöht sich damit die lokale Konzentration der [Cu-X]- gegenüber der [Cu-X<sub>2</sub>]-Spezies. Nach Gleichung (11)(30), die hier nochmals wiederholt wird, bewirkt dies eine Beschleunigung der Polymerisation.

$$-\frac{\mathrm{d}[\mathrm{M}]}{\mathrm{d}t} = R_{\mathrm{p}} = k_{\mathrm{p}} K_{\mathrm{ATRP}} \left( \frac{[\mathrm{P}_{n} \mathrm{X}][\mathrm{Cu}^{I}/L][\mathrm{M}]}{[\mathrm{X}-\mathrm{Cu}^{II}/L]} \right)$$
(18)

Anderes als bei der Abhängigkeit des Pfropfgrades von der Initiatorkonzentration, die auf Seite 73 diskutiert wird, wird dies hier nicht durch eine Änderung der Initiatorkonzentration hervorgerufen, sodass die Anzahl an wachsenden Ketten konstant bleibt. Damit muss sich bei erhöhter Polymerisationsgeschwindigkeit auch die Wachstumsgeschwindigkeit der einzelnen Ketten erhöhen.

#### 6.2.2 Membrancharakteristika in Abhängigkeit der Polymerlänge

Da die Abhängigkeit der Kettenlänge von der Polymerisationszeit gezeigt wurde, soll ihr Einfluss auf die Membrancharakteristika im Folgenden untersucht werden. Dafür werden die Zeitabhängigkeiten der Membraneigenschaften für unterschiedliche Versuchsreihen dargestellt und diskutiert. Da eine direkte Angabe der Polymerlänge nicht möglich ist, werden die gemessenen Größen in Abhängigkeit der Pfropfzeit angegeben. Die Angaben beziehen sich dabei jeweils auf PGMA gepfropfte und sulfonierte Membranen.

## Die Abhängigkeit des Pfropfgrades von der Polymerlänge

Der Pfropfgrad gibt an, wie viel Massenzuwachs während der Pfropfung stattgefunden hat. Letztlich ist dieser Wert also die Masse des Polymers, normiert auf die Membranmasse. Da, wie gezeigt, bei einer reversibel deaktivierten Polymerisation die Polymermasse linear mit der Zeit zunimmt und davon ausgegangen wird, dass alle Ketten bereits zu Beginn wachsen, muss die Gesamtmasse an Polymer ebenfalls linear zunehmen. Dies wird durch die zeitabhängig gemessenen Pfropfgrade in Abbildung 48 bestätigt.

Entsprechend der Beobachtung bei der Polymerisation von GMA mit Glucose auf Seite 82 ist dieses Wachstum erheblich schneller als bei der Umsetzung mit MMA. Dort wurde beispielsweise bei 1 vol-% 2-Bbb und zwei Stunden Reaktionszeit ein Pfropfgrad von 1 % erreicht, entgegen 18 % bei GMA unter ansonsten gleichen Bedingungen. Dennoch tritt hier noch keine sichtbare Abnahme des Polymerwachstums aufgrund von Monomermangel auf, obwohl die Membranen nur die Menge an Monomer zur Verfügung hatten, die beim Imprägnieren in den Poren zurückgeblieben ist. Da die Initiatorkonzentration allerdings erheblich niedriger ist als bei der Polymerisation in Lösung, reicht diese Menge offensichtlich aus.



Abbildung 48: Pfropfgrade ausgewählter Membranen in Abhängigkeit der Polymerisationszeit. Es zeigt sich jeweils eine lineare Zunahme des Pfropfgrades mit der Polymerisationszeit.

Eine Membran nimmt bei der Imprägnierung ca. 1 mL Lösung auf. Die verwendete Pfropflösung enthielt 12,5 vol-% Monomer, das eine Dichte von 1,04 g mol<sup>-1</sup> hat. Damit ergibt sich eine Gesamtmasse an Monomer von 130 mg in der Membran. Bei einem Ausgangsgewicht von etwa 200 mg entspricht das einer relativen Menge und damit einem maximalen Pfropfgrad von 65 %. Dieser Wert gilt allerdings für das nicht-sulfonierte GMA. Durch die Sulfonierung steigt die Masse pro Monomereinheit von 142 g mol<sup>-1</sup> auf 246 g mol<sup>-1</sup> für das Natriumsalz, das jeweils für das Wiegen verwendet wurde. Unter Berücksichtigung des sich damit ergebenen Faktors von 1,7 steigt der maximale Pfropfgrad auf etwa 110 %.

Somit sind auch bei den höchsten erreichten Pfropfgraden noch Monomere in der Membran vorhanden, auch wenn eine erhebliche Abreicherung stattgefunden hat.

Bei 102,5 min zeigt sich für die mit 1 vol-% 2-Bbb umgesetzten Membranen eine Abnahme des Pfropfgrades. Dies ist vermutlich auf eine fehlerhaft Umsetzung der Proben zurückzuführen. In den anderen Messreihen tritt ein solcher Effekt nicht auf. Möglicherweise sind hier einige der Membranen mit Sauerstoff in Berührung gekommen, was zu verstärkter Terminierung und damit verringertem Umsatz führen würde.

### Die Abhängigkeit der Permeabilität von der Polymerlänge

Auf Seite 75 wurde bei der Diskussion der Abhängigkeit der Permeabilität von der Polymerdichte angenommen, dass die Polymere bei höheren Dichten kaum geknäult, sondern größtenteils gestreckt vorliegen sollten. Dementsprechend nimmt die Permeabilität mit zunehmender Polymerisationszeit ab, da die Porenradien kleiner werden. Nach dem Hagen-Poiseuilleschen Gesetz (13) skaliert der Fluss durch ein Rohr mit der vierten Potenz des Rohrradius. Bei den dargestellten Verläufen ist dagegen näherungsweise ein linearer Trend zu erkennen. Auch wenn hier kein direkter Vergleich möglich ist, liegt dennoch nahe, dass der Porenradius sich nicht linear mit der Pfropfzeit ändern kann, wie bei stark gestreckten Ketten zu erwarten. Der Durchmesser eines geknäulten Polymers würde sich dagegen nur mit der dritten Wurzel der Masse ändern. Nach Hagen-Poiseuille bliebe damit noch immer eine Proportionalität des Flusses zur Molmasse von  $m^{4/3}$ .

Allerdings ist das gebildete Hydrogel keine undurchdringliche Masse für das Wasser oder den Puffer und die Membran weicht erheblich von einem idealen Rohr ab, sodass keine genaue Übereinstimmung erwartet werden kann. Dennoch spricht die lineare Zeitabhängigkeit der Permeabilitäten gegen eine fast vollständige Streckung des Polymers.



Abbildung 49: Permeabilitäten für Puffer ausgewählter Membranen in Abhängigkeit der Polymerisationszeit mit linearen Regressionen.

## Die Abhängigkeit der Bindungskapazität von der Polymerlänge

Der Verlauf der Bindungskapazität für Natriumionen entspricht, wie auch schon bei der Betrachtung der Abhängigkeit von der Initiatorkonzentration gezeigt, dem Verlauf der Pfropfgrade. Analog zur Betrachtung dort ist dieses Verhalten erwartet, da bei kleinen, einfach geladenen Ionen keine Zugänglichkeitseffekte oder ähnliches auftreten. Damit ist die Kapazität direkt abhängig von der der Anzahl an geladenen Gruppen auf der Membran, die von der Menge an Polymer bestimmt wird.



Abbildung 50: Ionische Kapazitäten in Abhängigkeit der Pfropfzeit. Es zeigen sich analoge Verläufe zu den Pfropfgraden.

Die Bindungskapazitäten für die Proteine Lysozym und  $\gamma$ -Globulin zeigen keine Auffälligkeit in Abhängigkeit der Pfropfzeit. Deutlich ist eine lineare Zunahme der Bindungskapazität erkennbar.

Der lineare Anstieg der Bindungskapazitäten mit der Pfropfzeit lässt darauf schließen, dass für alle drei Komponenten, Natriumionen sowie die Proteine Lysozym und  $\gamma$ -Globulin, durch eine Verlängerung der Ketten keine negativen Zugänglichkeitseffekte auftreten. Für beide Proteine werden sogar durchgängig näherungsweise die gleichen Kapazitäten erhalten.



Abbildung 51: Bindungskapazitäten für Lysozym in Abhängigkeit der Pfropfzeit. Es zeigt sich eine lineare Zunahme der Kapazitäten mit der Pfropfzeit.



Abbildung 52: Bindungskapazitäten für γ-Globulin in Abhängigkeit der Pfropfzeit. Wie bei der Bindung des Lysozyms zeigt sich eine lineare Zunahme mit der Reaktionszeit.

Wie bereits erwähnt, liegen der Bindung der Biomoleküle an der gepfropften Membran komplexere Mechanismen zugrunde. Diese sollen im folgenden Kapitel unter Berücksichtigung aller Daten diskutiert werden.

# 7 DIE BINDUNG VON BIOMOLEKÜLEN AN POLYMERFILMEN

Nachdem die Einflüsse der Polymereigenschaften auf die Membrancharakteristika bestimmt wurden, soll anhand der gewonnenen Daten ein Modell der Bindung von großen Biomolekülen, wie beispielsweise Proteinen, an Hydrogelen entwickelt werden. Durch eine aussagekräftige Erklärung der auftretenden Mechanismen wird es möglich, das auftretende Optimum der Bindung der Proteine zu erklären.

## 7.1 ENTWICKLUNG EINES BINDUNGSMODELLS FÜR PROTEINE AN OBERFLÄCHEN

Für die Bindung von Proteinen lässt sich festhalten, dass die Bildung eines Protein-Monolayers bei weitem nicht ausreichend wäre, um die gemessenen Kapazitäten zu erreichen.

Bei bekannter Masse M eines Proteins in kDa oder kg mol<sup>-1</sup> lässt sich sein Radius r in nm abschätzen nach<sup>84</sup>

$$r = 0.88 \cdot \sqrt[3]{M}. \tag{19}$$

Damit ergeben sich für die verwendeten Proteine Lysozym und γ-Globulin folgende Radien:

$$r_{\rm Lysozym} = 0.88 \cdot \sqrt[3]{14.3} = 2.14 \text{ nm}$$
 (20)

$$r_{\gamma-\text{Globulin}} = 0.88 \cdot \sqrt[3]{144} = 4.61 \text{ nm.}$$
 (21)

Näherungsweise wird für die verwendeten Biomoleküle angenommen, dass sie sich in Lösung und bei der Bindung wie harte Kugeln verhalten, ihr Volumen und die Fläche, die sie belegen, sich nach den einfachen geometrischen Formeln errechnet. Damit gilt:

$$A = \pi \cdot r^2 \tag{22}$$

und

$$V = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3 \tag{23}$$

Proteine sind Makromoleküle, die sich neben ihrer Primärstruktur, also der Abfolge der Aminosäuren, auch durch ihre Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur definieren. Diese sind vereinfacht auf Wechselwirkungen einzelner Kettenstränge miteinander zurückzuführen. Aufgrund der hohen Ordnung sind Proteine relativ kompakte Moleküle von definierter Struktur und guter Formstabilität, im Gegensatz zu statistischen Knäulen, wie beispielsweise bei synthetischen Polymeren. Die Annahme, dass die Struktur bei der Bindung an das Polymer erhalten bleibt, scheint also plausibel. Auch die Annahme der Kugelform ist für die hier gemachte Betrachtung akzeptabel, da das Ziel nur die Beschreibung korrekter Größenordnungen ist.

Mit den oben gemachten Annahmen ergeben sich die Projektionsflächen der Proteine zu

$$A_{\rm Lysozym} = \pi \cdot (2,14 \text{ nm})^2 = 14,3 \text{ nm}^2$$
(24)

und

$$A_{\gamma-\text{Globulin}} = \pi \cdot (4,61 \text{ nm})^2 = 66,8 \text{ nm}^2.$$
(25)

Für eine Kapazität von  $c_{Lysozym} = 1 \text{ mg cm}^{-2}$  und einer Oberfläche von 80 cm<sup>2</sup> pro cm<sup>2</sup> Anströmfläche ergibt sich eine Oberflächenbelegung von 0,0125 mg cm<sup>-2</sup>. Unter Berücksichtigung der Molmasse des Lysozyms entspricht dies einer Anzahl an Proteinen von 5,3 pro nm<sup>2</sup>. Mit der unter (24) berechneten ungefähren Projektionsfläche ergibt sich, dass etwa 75 Lysozymproteine übereinander angeordnet werden müssen, um diese Kapazität zu erreichen. Diese Näherung geht davon aus, dass die gesamte angegebene Oberfläche der Membran gleichmäßig belegt wird. Bei geringerer Dichte oder anderen Kapazitäten müsste die Anzahl an Proteinlagen entsprechend angepasst werden.

Unter den gleichen Annahmen ergeben sich für das  $\gamma$ -Globulin bei einer Projektionsfläche von 66,8 nm<sup>2</sup> und einer Anzahl an Proteinen von 0,5 nm<sup>-2</sup> etwa 34 Proteinlagen.

Wird die Projektionsfläche der Proteine mit der auf Seite 68 ermittelten Fläche pro Polymerkette von 0,3 nm<sup>2</sup> bei 5 vol-% Initiator verglichen, ergibt sich, dass auf der Fläche, die von einem Lysozym-Protein bedeckt wird, fast 50 Ketten vorhanden sein sollten, bei Globulin sogar über 200. Wie früher bereits diskutiert, sind die Werte der Polymerdichte als zu hoch anzusehen. Doch selbst wenn der tatsächliche Wert nur ein Zehntel der hier bestimmten annimmt, müssen immer noch mehrere Ketten von einem einzelnen Protein bedeckt sein.

Unter Berücksichtigung aller Messergebnisse ist eine Oberflächenstruktur, wie in Schema 30 wahrscheinlich.



Schema 30: Vermutliche Bindung von Proteinen auf der Membranoberfläche: (A) $\rightarrow$ (B): Bei sehr niedrigen Polymerdichten steigt die Proteinkapazität mit der Initiatordichte. Im hier verwendeten Bereich ist allerdings schnell eine Sättigung der Oberfläche zu beobachten. (B) $\rightarrow$ (C): Eine weitere Erhöhung der Initiatordichte bringt keine weitere Proteinbindung, da die Oberfläche schon vollständig belegt ist. Nur Pfropfgrad und ionische Kapazität steigen. (C) $\rightarrow$ (D): Bei noch mehr Initiator wird die Dichte des Hydrogels so hoch, dass eine Vollbelegung der Oberfläche eintritt. Damit reduziert sich die Proteinbindung aufgrund sterischer Hinderung.

Der Einbruch in allen Datensätzen bei 7,75 vol-% 2-Bbb ist vermutlich auf einen Fehler bei der Aktivierung der Membranen zurückzuführen.

Bei niedrigen Initiatorkonzentrationen (< 5,5 vol-%) kann die Proteinbindung gut durch eine einfache Zunahme der Polymerdichte erklärt werden. Je mehr Polymerketten auf der Oberfläche vorhanden sind, desto mehr Protein kann gebunden werden. Da die Polymere weit genug voneinander entfernt sind, behindern weder die Ketten noch die Proteine untereinander die Bindung. Aufgrund der hohen Polymerisationsgrade werden immer mehrere Schichten an Biomolekülen gebunden, nur ist diese Schicht hier noch nicht homogen, sondern es treten einzelne Stränge auf, wie in Schema 30(A) gezeigt.

Schema 30(B) zeigt einen Zustand, bei dem die Oberflächenbelegung von Initiator beziehungsweise Polymer gerade so hoch ist, dass eine maximale Bindung von Protein erreicht wird. Die Oberfläche ist vollständig von Proteinen bedeckt, alle Ketten binden über die gesamte Länge, sodass die Hydrogelschicht vollständig ausgenutzt wird.

Bei einer weiteren Erhöhung der Initiatordichte, wie in Schema 30(C) gezeigt, erhöht sich die Menge an Polymer und dadurch die ionische Kapazität, da für diese praktisch kein Größenausschluss auftritt. Bezogen auf die Bindung von Protein ist die Oberfläche allerdings schon vollständig belegt, sodass keine zusätzlichen Proteine gebunden werden können. Die Polymere können noch in ungenutzte Zwischenräume zwischen den gepackten Biomolekülen ausweichen, sodass noch keine negativen Effekte zu beobachten sind.

Wenn die Belegung der Oberfläche durch Polymer nahe der Vollbelegung ist, wie in Schema 30(D), verlangsamt sich die Zunahme des Pfropfgrades mit der Initiatorkonzentration, analog der Adsorption von Partikeln in Monolagen an Oberflächen. Dadurch verlangsamt sich in gleichem Maße die Zunahme der ionischen Kapazität, was zeigt, dass auch bei sehr dichtem Hydrogel immer noch eine gute Zugänglichkeit für kleine Ionen gegeben ist. Außerdem nimmt die Proteinbindungskapazität ab, da die großen Biomoleküle nicht mehr vollständig in die Hydrogelstruktur eindringen können. Durch die hohe Dichte der Polymerketten verdrängen diese die Proteine, insbesondere in der Nähe der Oberfläche, wo sie aufgrund ihrer Fixierung an der Cellulose weniger flexibel sind.

## Berechnung der Polymerkettendichte anhand des Modells

Das oben beschriebene Modell geht von zwei wichtigen Punkten aus: Es muss sich immer eine mehrlagige Proteinschicht ausbilden, um die gemessenen Kapazitäten zu erreichen und es wird sehr schnell eine vollständige Belegung der Oberfläche erreicht. Anhand dieser Annahmen und der gewonnenen Messdaten lässt sich eine Minimallänge für die Polymerketten und daraus eine tatsächliche Kettendichte abschätzen.

Wie auf Seite 91 berechnet, beträgt der Radius eines Lysozym-Moleküls näherungsweise 2,1 nm, sein Durchmesser also 4,2 nm. Wenn, wie danach diskutiert, 75 Proteine übereinander angeordnet sein müssen, um eine Kapazität von 1 mg/cm<sup>2</sup> zu erhalten, dann muss die Dicke der Hydrogelschicht und damit die Konturlänge der Polymere mindestens 320 nm betragen, damit auch die äußeren Proteine gebunden werden können.



Schema 31: Berechnungsgrundlage für die Kettenlänge und –dichte. Die Gesamtdicke l des Hydrgogels muss mindestens der Anzahl an übereinander liegenden Proteinen multipliziert mit ihrem Durchmesser d sein.

Diese Rechnung wurde für alle Messpunkte durchgeführt. Da die einzige Variable hier die Proteinkapazität für Lysozym ist, entspricht der Verlauf exakt dem der Lysozymkapazitäten, weshalb hier auf eine Darstellung verzichtet wird. Das zugehörige Diagramm befindet sich im Anhang. Für die unterschiedlichen Proteinkapazitäten und Initiatordichten ergeben sich je nach Polymerisationszeiten Kettenlängen von ca. 150 – 650 nm, entsprechend minimalen Polymerisationsgraden von 1100 – 4600 bei Annahme einer all-*trans*-Konfiguration (siehe S. 37).

Wenn die Polymerisationsgrade *P* bekannt sind, kann bei Kenntnis der molaren Masse der Monomereinheiten  $M_{Sulfoniert}$  und der Gesamtmasse des Polymers  $M_{Polymer}$  die Anzahl an Ketten  $n_{Polymer}$  berechnet werden, die auf einer Membran vorhanden sind.

$$n_{\rm Polymer} = \frac{m_{\rm Polymer}}{P \cdot M_{\rm Sulfoniert}}$$
(26)

Dabei berechnet sich  $m_{Polymer}$  wieder aus der Differenz der Masse der vollständig umgesetzten Membran zu der Ausgangsmasse. Da die Polymerisationsgrade *P* die Minimalwerte darstellen, die gebildet werden müssen um die jeweilige Kapazität zu erreichen, ist die Anzahl an Ketten  $n_{Polymer}$  ein Maximalwert, da er sich reziprok zu *P* verhält. Wenn mehr als  $n_{Polymer}$  auf der Membran vorhanden wären, müssten die einzelnen Ketten kürzer sein, um die gleiche Masse zu erreichen. Dann aber könnte nicht mehr die gleiche Anzahl an Proteinen erreicht werden.

Aus der so berechneten Polymermenge wurde die Oberflächenbelegung ermittelt. Die Ergebnisse sind unten dargestellt.



Abbildung 53: Auf Basis des Bindungsmodells ermittelte Kettendichten. Bei steigender Initiatorkonzentration nährt sich die Kettendichte einem Wert von durchschnittlich 0,4 Polymerketten pro nm<sup>2</sup>. Dieser Wert liegt im literaturbekannten Bereich für dichte Oberflächenbelegungen unter reversibel deaktivierten Polymerisationsbedingungen.



Abbildung 54: Pro Polymerkette verfügbare Fläche, der Grenzwert liegt etwa bei 0,25 nm<sup>-1</sup>.

Die Kettendichte pro nm<sup>2</sup> ist ein anschaulicher Wert für die Menge an Polymer auf der Oberfläche. Die erhaltenen Werte von etwa 0,4 Ketten pro nm<sup>2</sup> liegen im Bereich dessen, was in der Literatur für reversibel deaktivierte Polymerisationen bei dichter Oberflächenbelegung erreicht wird.<sup>70,96,97</sup>(20)

Dieser Wert ist erheblich niedriger als die früher für die ATRP-Umsetzung bestimmten Kettendichten. Tendenziell sollten die hier bestimmten Werte sogar den tatsächlichen überschätzen, da hier von maximaler Ausnutzung der Fläche ausgegangen wird und die Polymerketten als völlig gerade angenommen werden.

Die optimale Oberflächenbedeckung muss sehr wahrscheinlich reduziert werden, da unter der Annahme einer Kugelform für die Proteine eine Raumausfüllung von lediglich 74 % bei dichtester Packung erreicht wird.<sup>98</sup>



Schema 32: Eine Ebene in dichtester Kugelpackung. Die freien, rot eingefärbten Bereiche wurden bei der Berechnung nicht berücksichtigt. Dadurch verringert sich die Dichte der Proteinschicht, die Dicke muss zunehmen.

Da die Proteine nicht irreversibel gebunden sind, sich also nach der Bindung noch günstiger packen können, ist die Annahme einer dichtesten Packung, die sich während der Bindung einstellt, plausibel. Allerdings sind die Proteine keine harten Kugeln, sodass bei der Bindung an die Oberfläche wahrscheinlich eine Deformation auftritt. Damit dürfte der tatsächlich erreichbare Wert höher liegen als bei der dichtesten Kugelpackung. Dennoch wird eine weniger dichte Packung als die angenommenen 100 % vorliegen. Damit würde eine höhere Dicke der Proteinschicht nötig, um die gleiche Menge binden zu können. In der Folge müsste die Kettendichte niedriger sein als hier berechnet.

Ein anderer Punkt, der berücksichtigt werden muss, ist, dass die Polymerketten wahrscheinlich nicht vollständig gestreckt vorliegen. Zum einen ist diese Konformation entropisch sehr ungünstig, da nur ein einziger Zustand für jede Bindung erlaubt ist, zum anderen induzieren die Biomoleküle durch Wechselwirkung der Ladungen vermutlich eine Krümmung der Ketten, sodass diese sich teilweise an das Protein anlegen. Daraus resultiert, dass die Polymerketten länger sein müssen als allein durch die Summe der Durchmesser der Proteine vorgegeben. Dadurch reduziert sich die Kettendichte weiter.



Schema 33: Vergleich von all-*trans*-Anordnung und Anpassung der Polymere an die Form der Proteine. Letzteres ist wahrscheinlicher und verringert die Dicke des beladenen Hydrogels bei gleicher Kettenlänge.

Für das größere Protein Globulin, bei dem die Voraussetzung der vollständigen Oberflächenbelegung aufgrund der größeren Projektionsfläche früher gegeben ist, ergeben sich die gleichen Ergebnisse, sodass hier auf eine Darstellung verzichtet wird.

## 7.2 Vergleich der ATRP-gepfropften Membranen mit der Cer-gepfropften Standardmembran

Die reversibel deaktivierte Pfropfung soll im Folgenden mit der Cer-basierten Pfropfung in Emulsion verglichen werden. Die klassische Methode ist weit verbreitet in der Herstellung von modifizierter Cellulose und kann damit Bezugspunkt für eine Bewertung der Eignung des ATRP-Prozesses zur Herstellung von Membranadsorbern dienen.

Ein erster beobachteter Unterschied ist das Verhältnis zwischen der theoretisch erreichbaren und der gemessenen Kapazität  $c_{\text{Ion}}$ . Dieser soll hier als Effektivität *E* bezeichnet werden. Der theoretische Wert errechnet sich aus der Masse des sulfonierten Pfropfpolymers, bezogen auf die eingesetzte Fläche  $A_{\text{Stanzling}}$  und der Molmasse des Natriumsalzes der Sulfonsäure  $M_{\text{Sulfonsäure}}$ . Die Masse des gepfropften Polymers entspricht dabei der Differenz zwischen der Ausgangsmasse  $m_0$  und der Masse der vollständig umgesetzten Probe  $m_{\text{Sulfoniert}}$ .

$$E = \frac{c_{\text{Ion}}}{\frac{m_{\text{Sulfoniert}} - m_0}{M_{\text{Sulfonsäure}}} \cdot A_{\text{Stanzling}}}$$
(27)


Abbildung 55: Darstellung des Verhältnisses von ionischer Kapazität zur Anzahl gepfropfter Monomere in Abhängigkeit des Pfropfgrades. Zum Vergleich ist der entsprechende Wert für die Cer-initiierte Pfropfung bei 0,66 eingezeichnet.

Bei niedrigen Pfropfgraden haben mögliche Fehler beim Abwiegen eine große Auswirkung, da ein Massenunterschied von wenigen Milligramm den Pfropfgrad bereits erheblich ändern kann. Allerdings wäre zu erwarten, dass Fehler, die nur auf dem Abwiegen basieren, statistisch zu höheren und niedrigeren Pfropfgraden führen würden. Es ergeben sich allerdings nur sehr wenige Werte, die unterhalb des Grenzwertes für hohe Pfropfgrade liegen, der genauer bestimmbar ist. Daher kann dies nicht die Ursache der Abweichungen sein.

Eine mögliche Erklärung wäre eine Verunreinigung der Membran vor der Pfropfung, die im Verlauf der unterschiedlichen Umsetzungen ausgespült wird. Damit wäre die Anfangsmasse der Membran geringer als gemessen, es ergäben sich ein höherer Massenzuwachs und damit ein höherer Pfropfgrad. Das gleiche Ergebnis hätte ein teilweiser Abbau der Membran. Dieser könnte dadurch ausgelöst werden, dass durch die Funktionalisierung mit 2-Bbb unvollständig vernetzte Celluloseketten löslich werden. Alternativ könnte die gebildete Bromwasserstoffsäure auch zu einer Hydrolyse der Membran führen. Dabei abgespaltene Fragmente verringern die gemessene Massenzunahme und würden so zu einem höheren Verhältnis der ionischen Kapazität zur berechneten Menge an Sulfonsäuren führen. Für höhere Pfropfgrade lässt sich dennoch festhalten, dass ionische Kapazität näher an dem Wert liegt, der anhand des Pfropfgrades zu erwarten wäre, als bei der Cer-basierten Pfropfung. Ursächlich könnte der höhere pH-Wert bei der Umsetzung mit ATRP sein, da im Gegensatz zu dem unkontrollierten Prozess keine Säure zugesetzt wird und auch die eingesetzten Salze weniger sauer reagieren. Zudem kann Cer, wie bereits diskutiert, katalytisch zur Hydrolyse von Epoxiden beitragen.

Die ATRP-gepfropften Membranen zeigen für die Bindung von Lysozym bei Auftragung aller Daten der Permeabilität und Kapazität eine klare Abhängigkeit der beiden Werte. Im Vergleich mit der Cer-gepfropften zeigt sich, dass diese der gleichen Abhängigkeit genügt.



Abbildung 56: Auftragung der statischen Lysozym-Kapazitäten der mit ATRP hergestellten Membranen gegen die Permeabilität gegenüber KPi-Puffer. Zum Vergleich die Werte der Cer-gepfropften Membranen. Es zeigt sich eine Abhängigkeit von Bindung und Permeabilität, die auch für den Wert der Standardmembran gültig ist.

Auch wenn hier scheinbar keine Verbesserung gegenüber der konventionellen Pfropfung mit Cer erreicht wurde, zeigt sich doch ein erheblicher Vorteil der Verwendung von ATRP zur Polymerisation auf Membranen. Während es bei dem herkömmlichen Prozess nicht möglich ist, Permeabilitäten und Kapazitäten über einen weiten Bereich einzustellen, ohne das Ausgangsmaterial zu verändern, erlaubt die Pfropfung in zwei Schritten – Aktivierung und anschließende reversibel deaktivierte Polymerisation – die Permeabilität über den gesamten Bereich, vom ungepfropften Material bei etwa 600 ml min<sup>-1</sup> bar<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup> bis zu fast vollständiger Verblockung einzustellen. Solche Werte sind hier zwar nicht gezeigt, wurde aber im Verlauf der Arbeit ebenfalls angefertigt. Da bei sehr niedriger Permeabilität eine Bestimmung der unterschiedlichen Kapazitäten nicht mehr möglich ist, wurden solche Proben nicht weiter untersucht. Wie in Abbildung 57 gezeigt, sind auch die dynamischen Kapazitäten für die Bindung von Lysozym unter geeigneten Bedingungen höher als die der Cer-gepfropften Membran. Allerdings zeigt sich ein etwas weniger scharfes Durchbruchsverhalten, das sich auch in dem Verhältnis von dynamischer zu statischer Kapazität zeigt. Hier erreicht die Probe ein Verhältnis von 0,89:1,30 oder 68 %, gegenüber 0,53:0,75 oder 71 % bei der Standardmembran.



Abbildung 57: Dynamische Lysozym-Kapazität einer ausgewählten, mit ATRP gepfropften Membran im Vergleich zur Standardmembran. Die Werte der ATRP gepfropften Membran (10 vol-%, 85 min) sind (dynamisch/statisch) 0,89/1,30 mg cm<sup>-2</sup> bei einer Permeabilität von 160 ml min<sup>-1</sup> bar<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup>, die der Cer-gepfropften Membran 0,53/0,75 bei ca. 230 ml min<sup>-1</sup> bar<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup>.

Besonders bei hohem Durchbruch ab ca. 80 % (450 A.U.) steigt die gemessene Absorbanz sehr langsam an und nähert sich quasi asymptotisch dem vollständigen Durchbruch. Dies deutet darauf hin, dass die Belegung des Hydrogels nicht gleichmäßig erfolgt und eine optimale Packung sich erst später einstellt. Durch die langsame Ordnung im Hydrogel steht die gesamte Kapazität damit erst verzögert zur Verfügung.



Abbildung 58: Auftragung der statischen γ-Globulin-Kapazitäten der mit ATRP hergestellten Membranen gegen die Permeabilität gegenüber KPi-Puffer. Zum Vergleich die Werte der Standardmembran. Es zeigt sich wiederum eine Abhängigkeit und zusätzlich eine deutliche Verbesserung des Verhältnisses der beiden Größen.

Für  $\gamma$ -Globulin werden wesentlich bessere Verhältnisse für die Permeabilität und die statische Kapazität erreicht. Üblicherweise ist eine Verbesserung der Kapazität nur auf Kosten der Permeabilität zu erreichen, beispielsweise durch Verwendung engerer Poren, die durch die größere Oberfläche mehr Bindung ermöglichen, gleichzeitig aber auch den Flusswiderstand erhöhen. Dass hier eine gleichzeitige Verbesserung beider Werte erreicht werden kann, ist ein großer Vorteil der Methode der Pfropfung mit ATRP, insbesondere da das größere Globulin für mögliche Anwendungen relevanter ist als das Lysozym.

Dass die Kapazität für die Bindung großer Biomoleküle ähnlich der für kleine Proteine, teilweise sogar identisch ist, ist ein Punkt von besonderer Bedeutung. Für die Cer-gepfropfte Membran ergibt sich ein Verhältnis von Globulin- zu Lysozymbindung 1:2, für die ATRPgepfropften Membranen dagegen im Mittel etwa 1:1.

Auf Seite 46 wurde anhand der Molmasse einer mit Cer und PMMA gepfropften Membran die Kettendichte zu 0,45 Ketten je nm<sup>-2</sup> bestimmt. Wenn, wie zuvor für die ATRP-Proben, die Kettendichte der Standardmembran anhand ihrer Lysozym-Kapazität und ihrem Pfropfgrad berechnet wird, zeigt sich allerdings eine Abweichung. Nach der zweiten Methode sollten nicht mehr als 0,13 Ketten pro nm<sup>2</sup> auf der Oberfläche vorhanden sein. Diese Abweichung der beiden Methoden ist eventuell auf eine stärkere Abschirmung der Oberfläche bei der Verwendung von GMA zurück zu führen. Im Gegensatz zur reversibel desaktivierten Pfropfung, bei der alle Ketten gleichzeitig wachsen, findet bei der Polymerisation mit Cer eine kontinuierliche Initiierung statt. Je mehr Ketten dabei schon auf der Oberfläche gebildet wurden, desto schlechter ist die Zugänglichkeit für das Cer. Da das GMA sterisch anspruchsvoller ist als das MMA, ist dieser Effekt wahrscheinlich ausgeprägter. Eine geringere Anzahl an Ketten ist damit plausibel. Dies müsste dann durch höhere Polymerisationsgrade ausgeglichen werden. Mit der Berechnung über die Proteinkapazität ergibt sich hier eine molare Masse von etwa  $7 \cdot 10^5$  g mol<sup>-1</sup>.

Durch ATRP erhaltene Proben zeigen auch bei der gleichen Kettendichte ein anderes Bindungsverhalten, sodass das oben beschriebene Modell für Cer variiert werden muss. Der Vergleich der Daten von ausgewählten ATRP-Proben mit denen der klassischen Pfropfung kann hierfür die Grundlage sein.

[2-Bbb] /vol-%	<b>t</b> <sub>Pfropf</sub> / min	<b>D</b> g/%	$\nu$ / ml min <sup>-1</sup> bar <sup>-1</sup> cm <sup>-2</sup>	$C_{\rm Lys}$ / mg cm <sup>-2</sup>	C <sub>glob</sub> / mg cm <sup>-2</sup>
Mit Cer gepfropft		15	230	1,0	0,5
1	67,5	8	320	0,8	0,7
1	85	14	160	1,3	1,2

Tabelle 4: Vergleich ausgewählter ATRP-gepfropfter Membranen mit Standardmaterial

Wie sich zeigt, ist die Standardmembran ihrer Eigenschaften nach ähnlich zu ATRPgepfropften, die mit nur 1 vol-% Initiator aktiviert wurden.

Wie bereits aus der Zersetzung der mit Cer gepfropften Membran bekannt (Seite 39), findet bei der Polymerisation von GMA unter den klassischen Bedingungen eine Vernetzung der einzelnen Polymerketten statt, die hier für die mit ATRP hergestellten Ketten noch nicht diskutiert wurde.

Tatsächlich gibt es wenig Hinweise, die auf eine ausgeprägte Vernetzung des Hydrogels unter den Bedingungen der reversibel desaktivierten Polymerisation schließen lassen. Beispielsweise ist der Unterschied zwischen den Permeabilitäten für Wasser und Puffer, der gerne als Hinweis auf die Menge an Vernetzung herangezogen wird, bei diesen Proben sehr unterschiedlich und überstreicht einen Bereich von etwa 1:1 bis über 1:10. Eine derartig starke Veränderung der Vernetzung ist wenig plausibel und sollte sich auch in unterschiedlichen Bindungskapazitäten für Lysozym und Globulin widerspiegeln, was nicht der Fall ist (siehe Abbildung 59).



Abbildung 59: Abbildung der Verhältnisse der Bindungskapazitäten für die beiden Proteine in Abhängigkeit der Verhältnisse der Permeabilitäten für Wasser und Puffer. Es zeigt sich keinerlei Abhängigkeit, was gegen eine Vernetzung des Hydrogels als Ursache des Unterschieds der Permeabilitäten spricht.

Für die klassische Pfropfung mit Cer dagegen zeigt sich deutlich ein Größenausschlusseffekt bei der Bindung von unterschiedlich großen Proteinen. Dieser kann erklärt werden, da bei starker Vernetzung die Flexibilität des Hydrogels eingeschränkt wird und außerdem ein Siebeffekt hervorgerufen werden kann, der verhindert, dass das größere Globulin gleich weit in die Gelschicht eindringen kann wie das kleinere Lysozym.

Dass dieser Effekt bei der Pfropfung mit ATRP nicht beobachtet wird, ist ein weiterer erheblicher Vorteil der Verwendung der reversibel desaktivierten Polymerisation.



Schema 34: Bindung von Proteinen mit und ohne Vernetzung. Ohne Vernetzung (links) sind die Polymere flexibel und können das Protein umschließen. Bei Vernetzung (rechts) wird durch die eng aneinander liegenden Ketten verhindert, dass das Protein in den Film eindringen kann. Kleinere Proteine können dagegen immer noch in diese starre Struktur gelangen.

#### Bestimmung der Parameter eines optimalen Adsorbers

Da, wie beschrieben, die Verwendung der zweistufigen Pfropfung mit ATRP die flexible Einstellung der Kettendichte und –länge erlaubt, sollte es möglich sein, eine für die Proteinbindung optimierte Membran herzustellen.



Abbildung 60: Abhängigkeit der Lysozym- (links) und Globulinbindung (rechts) von der Pfropfzeit und der Initiatorkonzentration. Für beide Proteine zeigen sich die gleichen Zusammenhänge.

Es zeigen sich für beide hier verwendeten Proteine die gleichen Verläufe, sodass eine Unterscheidung nicht möglich ist. Dies ist überraschend, da sich ein deutlicher Unterschied zeigen sollte. Das kleinere Lysozym sollte bei 1 vol-% Initiator nach der Abschätzung zur Kettendichte auf Seite 94 etwa eine Kette pro Protein bedecken. Damit sollte eine Erhöhung der Kettendichte zu einer Abnahme der Bindung führen, da das Polymer das Protein verdrängt, wie oben diskutiert. Zumindest aber sollte sich keine Steigerung der Kapazität einstellen. Das Gleiche ist gültig für das größere Globulin, das bei 1 vol-% 2-Bbb bereits etwa sechs Ketten pro Protein binden sollte. In beiden Fällen ist eine Erhöhung der Kapazität nicht zu erwarten.

Eine mögliche Erklärung bietet der Vergleich mit den AFM-Aufnahmen des gepfropften Cellophans auf Seite 71, das hier nochmals als Ausschnitt gezeigt wird.



Abbildung 61: AFM-Aufnahme von PMMA gepfropftem Cellophan von Seite 71. Eine Clusterbildung ist sichtbar.

Deutlich ist bei niedriger Initiatorkonzentration eine Clusterbildung des gepfropften Polymers erkennbar. Wenn dies ebenfalls auf der Membranoberfläche auftritt, führt die Bestimmung der Kettendichte über die Proteinbindung und den Pfropfgrad zu falschen Ergebnissen. Statt einer gleichmäßigen Verteilung der Polymere auf der Oberfläche ergeben sich gepfropfte Bereiche, in denen die Kettendichte so groß ist, dass keine Unterschiede zwischen den Proteinen auftreten, und Bereiche, in denen gar kein Protein gebunden wird. Damit wäre die Initiatorkonzentration von 3,25 vol-% für beide Proteine ideal und geringere Dichten würden jeweils zu einer unvollständig besetzten Oberfläche führen.

Da die Qualität eines Membranadsorbers nicht ausschließlich von der Bindungskapazität bestimmt wird, ist es außerdem sinnvoll, die Permeabilität zu berücksichtigen. Da eine hohe Bindung im Allgemeinen auch einen hohen Flusswiderstand bedingt und umgekehrt bei guten Permeabilitäten nur schlechte Kapazitäten zu erwarten sind, ist zu erwarten, dass eine optimierte Membran weder maximale Permeabilitäten noch Kapazitäten erreichen wird. Eine möglichst ideale Membran soll so definiert werden, dass sie das beste mögliche Verhältnis beider Größen besitzt.

Um diese Bedingung zu erfüllen, wurden die  $\gamma$ -Globulin-Kapazität und die Permeabilität für Puffer auf den jeweils maximal auftretenden Wert normiert und miteinander multipliziert. Die erhaltenen Daten wurden gegen die Pfropfzeit und die Initiatorkonzentration aufgetragen.



Abbildung 62: Auftragung der Produkte der normierten Flüsse und Kapazitäten. Es zeigt sich ein Optimum bei ca. 3,25 vol-% Initiator und 67,5 min Polymerisationszeit.

Auf diese Weise wird ein Optimum bei 67,5 min Pfropfzeit und 3,25 vol-% Initiator bestimmt, entsprechend einer Kapazität von 1,0 mg cm<sup>-2</sup> und einer Permeabilität von 235 ml min<sup>-1</sup> bar<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup>. Fast ebenso gut ist das Verhältnis bei 10 vol-% und 67,5 min und 20 vol-% und 85 min.

Das Optimum liegt also etwa bei der gleichen Permeabilität wie die mit Cermethode erreichten und liefert dabei etwa doppelt so hohe Bindungskapazitäten für  $\gamma$ -Globulin. Auch wenn für diese Punkte keine dynamischen Kapazitäten für dieses Protein vorliegen, legt die Messung aus Abbildung 57 nahe, dass auch hier hohe dynamische Bindungen erreicht werden.

Eigenschaft	Cer-Pfropfung	ATRP-P	fropfung
Initiatordichte / vol -%		3,25	10
Polymerisationszeit / min	20	67,5	67,5
Pfropfgrad / %	15	23	34
Permeabilität / ml min <sup>-1</sup> bar <sup>-1</sup> cm <sup>-2</sup>			
Wasser	130	150	171
KPi-Puffer	240	236	248
Ionische Kapazität / µmol cm-2	2,6	4,6	8,7
Bindungskapazität / mg cm- <sup>2</sup>			
Lysozym	1,0	1,0	0,9
γ-Globulin	0,5	1,0	1,0

Tabelle 5: Vergleich des Cer-gepfropften Standardmaterials mit den zwei besten Ergebnissen der ATRP-Pfropfung

# 8 Fazit

Es konnte gezeigt werden, dass die durch Cer-Initiierung gebildete Hydrogelschicht einen hohen Vernetzungsgrad aufweist. Anhand von Modellverbindungen konnte gezeigt werden, dass unter den Pfropfbedingungen bis zu 15 % der eingesetzten Epoxide geöffnet werden, wobei allerdings nicht jedes geöffnete Epoxid zu einer Vernetzung führen muss.

Dadurch stellt sich eine Analyse des gepfropften Polymers als wenig erfolgversprechend dar, sodass mit anderen Monomeren gearbeitet werden musste. So konnte eine ungefähre Kettenlänge und –dichte von 0,45 Ketten pro Nanometer bestimmt werden. Dieser Wert ist höher als der durch die Menge an gebundenem Protein berechnete von 0,13. Da beide Werte über indirekte Messungen bestimmt wurden, ist diese relativ kleine Abweichung allerdings vernachlässigbar. In beiden Fällen stehen für jedes gebundene Protein mehrere Ketten zur Verfügung und es sollte sich eine vollständig bedeckte Oberfläche ergeben. Unterschiede ergeben sich dadurch auch in der molaren Masse der gepfropften Polymere, unter Vernachlässigung der Vernetzung ergab sich ein *M* von 2 – 7 · 10<sup>5</sup> g mol<sup>-1</sup>.

Die bei der Pfropfung verwendete Emulsion besteht aus Tröpfchen, deren Durchmesser etwa genauso groß ist wie der der Poren der Membran. Dennoch ergeben sich keine Einschränkungen durch Größenausschluss. Es konnte gezeigt werden, dass eine Filtration der Mischung keinen Einfluss auf die Membraneigenschaften hat und dass sich die gleiche Größenverteilung nach wenigen Minuten wieder einstellt.

Zusätzlich zur Untersuchung der Cer-initiierten Polymerisation wurden Pfropfungen mit ATRP auf Membranen durchgeführt. Dafür wurde in einem ersten Schritt ein geeigneter Initiator, 2-Bromoisobutyrylbromid, an die Oberfläche gebunden und von diesem ausgehend eine kupferkatalysierte reversibel deaktivierte Polymerisation durchgeführt.

Es konnte gezeigt werden, dass unter den gewählten Bedingungen sowohl an Glucose mit GMA als auch an Membranen mit MMA schmale Molmassenverteilungen und lineare Abhängigkeiten der Polymerisationsgrade von der Polymerisationszeit erreicht wurden.

Die Anzahl an wachsenden Ketten auf der Oberfläche wurde auf unterschiedliche Arten bestimmt. Eine direkte Quantifizierung des gebundenen Initiators lieferte wesentlich zu hohe Werte von bis zu 30 Molekülen pro nm<sup>2</sup>. Dies wurde durch starke Quellung der Membran begründet, sodass die zur Verfügung stehende Oberfläche tatsächlich deutlich größer war und auch tiefere Schichten funktionalisiert wurden. MMA wurde auf Membranen gepfropft und das Polymer nach Zersetzung der Membran isoliert und analysiert. Aus der ermittelten Molmasse und dem Pfropfgrad der Proben wurden Kettendichten von bis zu vier pro nm<sup>2</sup> bestimmt. Ein niedrigerer Wert als bei der Initiatordichte war erwartet, da im Allgemeinen nur etwa ein Zehntel der vorhandenen Initiatoren eine Polymerisation startet. Auch der hier ermittelte Wert ist allerdings tendenziell als zu groß einzustufen, wofür teilweise die gleichen Erklärungen herangezogen werden können wie für die direkte Quantifizierung des Initiators.

Zusätzlich wurde eine Obergrenze für die Dichte an Polymeren bestimmt, indem das Volumen von gebundenen Proteinen abgeschätzt wurde und daraus eine minimale Hydrogeldicke und damit Kettenlänge bestimmt wurde. Auf diese Weise wurden Polymerdichten von bis zu 0,4 Ketten pro nm<sup>2</sup> ermittelt. Für diese Methode wurden allerdings viele Annahmen gemacht, sodass dieses Ergebnis ebenfalls nicht als exakt angenommen werden sollte.

Dennoch deuten alle Experimente darauf hin, dass die Polymerdichte für beide Polymerisationsarten so hoch ist, dass für die beiden betrachteten Proteine Lysozym und  $\gamma$ -Globulin jeweils mehr als eine Kette pro Projektionsfläche eines Proteins vorhanden ist.

Durch die Experimente konnte gezeigt werden, dass die Polymerlänge und –dichte bei der ATRP-Pfropfung unabhängig voneinander eingestellt werden können. Der Einfluss beider Größen auf die Membraneigenschaften wurde systematisch untersucht und ein komplexer Zusammenhang zwischen Bindungskapazität und Pfropfdichte sowie zwischen Permeabilität und Pfropfdichte gefunden. Die Abhängigkeiten von der Polymerlänge entsprachen dagegen den Erwartungen.

Für die Bindungskapazität von Proteinen wurde ein Optimum gefunden, das der Vorstellung einer homogenen Verteilung des Polymers auf der Oberfläche widerspricht. Dies wurde einer Clusterbildung während der Polymerisation zugeschrieben.

Im Vergleich der beiden Pfropfungsreaktionen wurde geschlossen, dass die kupferkatalysierte Polymerisation zu deutlich weniger Vernetzung neigt als die durch Cer initiierte.

# 9 AUSBLICK

Das Thema der oberflächeninitiierten Pfropfung zur Herstellung von Membranadsorbern zum Ionentausch und zur Aufreinigung von Proteinen bietet noch eine Vielzahl an Möglichkeiten, um die Bildung des Hydrogels und die Bindung von Zielverbindungen zu untersuchen.

Die Cer-initiierte Pfropfung von GMA und die daraus resultierenden Polymereigenschaften sind schwer zu analysieren, sodass weitere Experimente nötig sind. Beispielsweise wäre es von Interesse, eine Copolymerisation von MMA und GMA auf Membran durchzuführen. Beide Monomere sind kompatibel und haben ähnliche Reaktivitätsverhältnisse, sodass sich ein statistisches Copolymer bilden sollte.<sup>13,99</sup> Unter den bisherigen Pfropfbedingungen stehen bei einer ionischen Kapazität von 2,6 µmol cm<sup>-2</sup> und einer Lysozymkapazität von 1 mg cm<sup>-2</sup> jedem Protein 38 Ladungen zur Bindung zur Verfügung, das Protein selber ist aber bei dem zur Bindung verwendeten pH von etwa 7 nur achtfach positiv geladen.<sup>100</sup> Durch eine Verringerung des Anteils an GMA sollte sich damit die Proteinkapazität wenig oder gar nicht ändern, wohingegen die Quellung des Materials und auch die Vernetzung zurückgehen sollten. Eventuell kompensieren sich diese Effekte, sodass keine Verbesserung eintritt, aber eine relative Erhöhung der Bindungskapazität für das größere  $\gamma$ -Globulin sollte aufgrund der besseren Zugänglichkeit möglich sein.

Ein ähnlicher Effekt ist möglicherweise auch durch die Verwendung von bereits geladenen Monomeren möglich. Durch das Fehlen des Epoxids könnte keine Vernetzung auftreten, sodass weniger Größenausschluss auftreten sollte. Dabei ist zu erwarten, dass ein solches Material sehr stark quellen würde. Allerdings sollte sich das gepfropfte Polymer nach der hier beschriebenen Methode abtrennen und analysieren lassen, sodass ein direkter Vergleich von Bindungs- und Polymereigenschaften möglich wäre.

Die Verwendung eines Übertragungsagenzes hätte dagegen vermutlich einen negativen Effekt. Verbindungen wie einige Thiole können eine Gruppe oder ein einzelnes Atom auf eine radikalisch wachsende Kette übertragen, sodass diese nicht weiter reagieren kann. Stattdessen bildet sich ein Radikal am Thiol, das seinerseits polymerisieren kann. Da die ändert. Radikalkonzentration sich nicht bleiben auch Umsatz und Wachstumsgeschwindigkeit gleich, lediglich die mittlere Kettenlänge wird verkürzt.<sup>101</sup> Da das GMA aber, wie gezeigt, sehr stark zur Vernetzung neigt, würde dadurch lediglich die Polymerdichte an der Oberfläche verringert und mehr in die Pore hinein verlagert, da das freie Polymer ebenfalls an das Hydrogel gebunden wäre, sodass eine erhebliche Reduzierung der Permeabilität zu erwarten ist.

9 Ausblick

Im Bereich der Pfropfung mit ATRP sind ebenfalls noch sinnvolle Untersuchungen vorstellbar. Anhand der Daten ist ersichtlich, dass der gewählte Bereich an Initiatorkonzentration schon zu vollständiger Oberflächenbelegung führt. Niedrige Kettendichten führen, wie gezeigt, nicht zu einer homogenen Verteilung des Polymers, sondern zu einer Clusterbildung. Durch den Einsatz inaktiver Spezies sollte es möglich sein, eine gleichmäßige Verteilung des Initiators auf der Oberfläche zu erreichen. Eine Mischung des Initiators 2-Bromoisobutyrylbromid und Isobutyrylbromid sollte bei vollständiger Oberflächenbelegung eine gleichmäßige Verteilung der beiden Komponenten liefern. Somit wäre sichergestellt, dass eine ungleichmäßige Verteilung des Polymers nicht durch den Initiator bestimmt wird. Außerdem könnten niedrigere Oberflächendichten erreicht werden, ohne dass das hochreaktive Säurebromid bereits größtenteils am Eingang der Poren abreagiert.

Damit sollten sich Bindungsmaxima ergeben, die je nach Größe des Proteins bei unterschiedlichen Initiatordichten auftreten. Zusätzlich wäre es nützlich, neben der Bindung der beiden hier verwendeten Proteine noch die Bindung größerer Objekte, möglicherweise funktionalisierte Gold- oder Silicapartikel, zu untersuchen. So ließen sich die Bindungsbedingungen über sehr viel breitere Bereiche untersuchen, die zwar nicht mehr zur ursprünglichen Anwendung passen, allerdings helfen sollten, das Bindungsmodell zu verfeinern und besser zu verstehen.

Durch das gezielte Einbringen von Monomeren, die zu Vernetzung fähig sind, oder durch Reaktion der Membran vor der Sulfonierung mit einer Verbindung, die Epoxide vernetzen kann, wie beispielsweise ein Diol, könnte ein definierter Vernetzungsgrad eingestellt werden und die resultierenden Membraneigenschaften untersucht werden. Wie oben diskutiert, unterscheiden sich die ATRP- und die Cer-gepfropften Membranen deutlich in ihrer Vernetzung. Durch sukzessive Erhöhung der Anteils verbundener Ketten könnten die Bindungseigenschaften der ATRP-gepfropften Membran an die aus der Polymerisation mit Cer angepasst werden, beispielsweise in Bezug auf das Bindungsverhältnis von Lysozym und  $\gamma$ -Globulin. Damit wäre eine Abschätzung des Vernetzungsgrades während der Standardpfropfung möglich.

Weitere Änderungen des ATRP-Systems betreffen die Verwendung eines Aktivator Regeneriert durch Elektronentransfer (*Activator ReGenerated* by *Electron Transfer*, ARGET)-ATRP Systems. Bei dieser modernen ATRP-Technik wird ein Reduktionsmittel zugesetzt und auf die reduzierte Form des Katalysators verzichtet. Dieser wird erst in-situ gebildet. Durch den Überschuss an Reduktionsmittel benötigt die Polymerisation geringere Katalysatorkonzentrationen und wird toleranter gegenüber Sauerstoff. Diese Modifikation wäre insbesondere im Hinblick auf eine industrielle Anwendung nützlich. Eine weitere interessante Möglichkeit ist die, einen spaltbaren Initiator zu verwenden. Beispielsweise können Verbindungen synthetisiert werden, die aus drei Segmenten bestehen. Dabei werden die äußeren Bauteile so gewählt wie bei dem hier verwendeten Initiator 2-Bromoisobutyrylbromid, also ein Säurebromid zur Anknüpfung an die Cellulose und ein 2-Bromisoproylrest zum Starten der Polymerisation. Dazwischen kann eine leicht spaltbare Bindung eingesetzt werden, wie beispielsweise eine Disulfid-Brücke. Wird mit diesem Initiator polymerisiert, können die gebildeten Ketten später unter milden Bedingungen oxidativ oder reduktiv abgespalten werden, ohne die Epoxide des GMA zu hydrolysieren, sodass dieses analysiert werden kann.

Allgemein wäre eine Messung der Permeabilität mit nicht-quellenden Flüssigkeiten wie beispielsweise Hexan interessant, sodass sich ein weiterer Anhaltspunkt für die Polymerstruktur ergibt. Mit Wasser und Pufferlösung stehen bisher nur Bedingungen zur Verfügung, bei denen maximale und reduzierte Quellung auftritt. Ein Vergleich mit weniger oder gar nicht quellenden Medien würde Informationen über die Struktur des Polymers, den Grad der Vernetzung und die Dichte des Materials erlauben. Damit wäre es beispielsweise möglich, die Vorstellung, die Ketten müssten aus sterischen Gründen stark gestreckt vorliegen, zu überprüfen, da sie dann auch unter nicht-quellenden Bedingungen zu einer stark verringerten Permeabilität führen müssten.

# $10\,Materialien$ und Methoden

Im Folgenden werden die verwendeten Chemikalien und Vorschriften vorgestellt.

## 10.1 Verwendete Chemikalien

Das Monomer wurde im industriellen Maßstab von der Firma Sartorius erworben und zur Verfügung gestellt.

Die eingesetzten Membranen wurden zur Verfügung gestellt von der Firma Sartorius Stedim Biotech.

Alle anderen Chemikalien wurden kommerziell erworben und wie beschrieben eingesetzt.

### 10.2 PFROPFUNG AUF CELLULOSE



Die Membranen wurden ausgestanzt (rund, 65 mm Durchmesser) und auf einer Trockenwaage (Sartorius MA 200) bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz gewogen.

Cersulfat (Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 4 H<sub>2</sub>O, 1,5 g) wurde in angesäuertem Wasser vorgelöst. Nach vollständiger Lösung des Feststoffs wurde mit Wasser bis auf 485 g aufgefüllt. Die Lösung wurde in einer Gaswaschflasche für 30 min mit Argon oder Stickstoff entgast.

Währenddessen wurden je maximal vier Membranstanzlinge in die Pfropfapparatur eingehängt und ebenfalls entgast. Emulgator<sup>a</sup> (480 mg) wurde mit Monomer (GMA: 15,52 g, 109 mmol; MMA 10,9 g, 109 mmol) gemischt und in einen Tropftrichter gegeben.

Nach Ende der Entgasungszeit wurde die wässrige Phase in die Apparatur überführt und mit der Organischen vermischt. Nach kurzem Rühren wurden die Membranen für ca. 5 s in die Emulsion eingetaucht und danach für 20 min unter Schutzgas im Reaktor behalten.

Nach der Reaktionszeit wurden die Membranen 10 min mit fließendem Wasser gespült und im Trockenschrank bei 80 °C für 20 min getrocknet.

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Aus markenschutzrechtlichen Gründen wird der Emulgator hier nicht exakt bennant.

## Pfropfung auf Cellophan

Bei der Pfropfung auf Cellophan wurde analog der Pfropfung auf Cellulose verfahren. Statt der Stanzlinge wurden Stücke von ca. 2-3 cm<sup>2</sup> ausgeschnitten und mit Metallklammern an die Haken der Apparatur gehängt.

## Polymerisation mit Glucose, Cellobiose und $\beta$ -Cyclodextrin

Bei der Polymerisation mit Glucose, Cellobiose und Cyclodextrin wurden die gleichen Konzentrationen wie bei der Pfropfung auf Membranen verwendet.

Das jeweilige Ausgangsmaterial wurde in einem Rundkolben mit Septum in Wasser gelöst und 20 min. entgast. Die Cer/Schwefelsäure-Mischung wurde in einer Gaswaschflasche für 20 min entgast. Das Monomer/Emulgator Gemisch wurde in einem Rundkolben mit Septum entgast und nach der Entgasungszeit mit einer Spritze in den Reaktionskolben übertragen. Gleichzeitig wurde die Cer-Phase in den Kolben überführt. Nach kurzem Mischen wurde das gelöste Ausgangsmaterial zugegeben und für die gewünschte Polymerisationszeit gerührt.

Nach Ende der Reaktionszeit wurde die Reaktion durch Zugabe von unentgastem Wasser gestoppt. Der entstandene Feststoff wurde filtriert, mit Aceton aufgenommen, mit Diethylether gefällt und getrocknet.

## 10.3 REAKTION MIT (TERT-BUTOXYMETHYL)OXIRAN

Analog zur Pfropfung mit Cer und Cellulose wurde die Cerlösung hergestellt (100 mL). (*tert*-Butoxymethyl)-oxiran (3 g) wurde mit dem Emulgator (100 mg) gemischt und nach der Entgasung der Cerlösung beides gemischt. Nach 20 min wurde die Lösung mit Natriumcarbonat neutralisiert, mit Dichlormethan ausgeschüttelt und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Anschließend wurde bei 600 mbar eingeengt, bis kein Lösungsmittel mehr verdampfte. s

### **10.4** Atom Transfer radikalische Polymerisation auf Membranen

Die ATRP-Pfropfung der Membranen wurde in zwei Schritten durchgeführt. Zuerst wurde der Initiator 2-Bromoisobutyrylbromid (2-Bbb) auf der Probenoberfläche fixiert und in einem zweiten Schritt von diesem ausgehend eine Polymerisation durchgeführt.

#### 10.4.1 Initiierung

Es wurden runde Membranproben von 63 mm Durchmesser ausgestanzt und an einer Trockenwaage bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz gewogen. Je nach gewünschter Verdünnung wurde 2-Bbb in einer Kristallisierschale mit Dichlormethan gemischt und kurz geschwenkt. Die Membranproben wurden für fünf Sekunden eingetaucht. Überschüssige Lösung wurde an der Gefäßwand abgestrichen und die Proben in einem Wägegläschen verschlossen für die gewünschte Reaktionszeit liegen gelassen. Zusätzlich zu den gewünschten Proben wurde eine weitere Membran imprägniert und unten in das Wägegläschen gelegt. Somit wurde sichergestellt, dass auch die unterste Probe auf einer anderen Membran auflag, für alle Proben also identische Bedingungen galten.

Nach der Reaktionszeit wurden die Gläschen geöffnet und die Membranen nacheinander für 15 min unter fließendem Wasser, 15 min in Aceton und nochmals 10 min mit fließendem Wasser gespült. Die Proben wurden auf ein Zellstofftuch getupft und 20 min bei 80 °C getrocknet. Nach der Trocknung wurden die Membranen auf der Trockenwaage bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz gewogen.

#### 10.4.2 POLYMERISATION



Abbildung 63: Skizze des zur ATR-Polymerisation auf Membranen verwendeten Aufbaus.

Der verwendete Aufbau ist in Abbildung 63 dargestellt. Die Membranen wurden mit den nötigen Glasgeräten in einem Glovebag (1) vorgelegt. Stickstoff wurde nacheinander durch mehrere Gaswaschflaschen geleitet, bevor er in den Bag geleitet wurde. Zuerst wurde eine Flasche mit Isopropanol (IPA) verwendet (2), um eine zu starke Abreicherung der leichter flüchtigen Komponente zu vermeiden. In der nächsten Waschflasche (3) wurde die Mischung von ROW, IPA und Monomer vorgelegt (750 mL; IPA: 60,0 vol-%; ROW: 27,5 vol-%; GMA: 12,5 vol-%) und 25 min mit Stickstoff gespült. Die letzte Flasche (4) beinhaltete die festen Komponenten, CuBr(625 mg, 4,35 mmol, 13 Äq.), CuBr<sub>2</sub>(75,0 mg, 330  $\mu$ mol, 1,0 Äq.) und bpy(1,79 g, 11,5 mmol, 34 Äq.). Sie wurde nach abgeschlossener Entgasung der Flasche (3) durch deren Auslass für 15 min mit N<sub>2</sub> gespült. Gleichzeitig wurde der Bag durch den Auslass von Flasche (4) gespült.

Die Lösung wurde durch den Auslass der Waschflasche (3) in Flasche (4) überführt und die Mischung 45 min unter  $N_2$ -Strom gerührt. Anschließend wurde die Lösung in den Glovebag überführt und je nach Anzahl an unterschiedlichen Reaktionszeiten in Glasschalen (5) aliquotiert.

Die Membranen wurden in passenden Abständen voneinander eingetaucht, sodass alle Reaktionszeiten zur gleichen Zeit beendet waren. Dabei wurde für jede neue Zeit eine neue Lösung verwendet, um Verfälschungen durch Homopolymer zu vermeiden. Nachdem die Membranen imprägniert wurden, wurden sie für die Dauer der Reaktion in verschließbare Gläser (6) gegeben. Zusätzlich zu den Proben wurde jeweils eine zusätzliche Membran in die Lösung eingetaucht und zuunterst in das Glas gegeben, damit alle Proben auf anderen Membranen lagen und nicht auf der glatten Glasoberfläche.

Nach Ablauf der Reaktionszeiten wurde der Glovebag geöffnet und die Proben entnommen. Sie wurden 10 min unter fließendem Wasser, 15 min in Aceton und 10 min unter fließendem Wasser gespült. Nach Trocknung auf Zellstoff und im Trockenschrank bei 80 °C für 20 min wurden sie auf einer Trockenwaage bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz gewogen.

#### 10.5 Sulfonierung des Pfropfpolymers<sup>13</sup>

Die Umsetzung der Epoxide der PGMA gepfropften Membranen zu Sulfonsäuren erfolgte durch Reaktion des Polymers mit Natriumsulfit nach



Schema 35: Sulfonierung des PGMA.

600 g Wasser wurden vorgelegt und unter Kühlung 180 g Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> und 50 g eines Phasentransferkatalysators<sup>b</sup> gelöst.

Zur Umsetzung wurde so viel Lösung verwendet, dass alle eingesetzten Membranen frei in einer 500 ml Weithalsgewindeflasche schwimmen konnten. Die Lösung wurde auf 85 °C erwärmt und die Membranen unter Rühren 45 min bei 85 °C umgesetzt. Danach wurden die Membranen 10 min mit fließendem Wasser gespült, 5 min in 0,1 N HCl und zweimal 5 min in 1 M NaCl-Lösung geschwenkt. Abschließend wurden sie nochmals 10 min mit fließendem

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup> Aus markenschutzrechtlichen Gründen wird der Phasentransferkatalysator hier nicht exakt bennant.

Wasser gespült und 20 min bei 80 °C im Trockenschrank getrocknet. Danach wurden sie mit einer Trockenwaage bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz gewogen.

#### **10.6 UNTERSUCHUNG DER EMULSION**

Zur Untersuchung des Einflusses der Filtration auf die Emulsion wurde die Pfropflösung mit Cer, Wasser und Schwefelsäure vorbereitet wie bei der regulären Pfropfung mit Cer. Der Ausgang der Waschflasche wurde in ein Becherglas in einem Glovebag geleitet. Während des Entgasens der Lösung mit Argon für 60 min wurde der Glovebag gleichzeitig gespült. Das Emulgator/Monomer-Gemisch wurde in dem Becherglas vorgelegt. Nach Ende der Entgasungszeit wurde die wässrige Phase in den Bag überführt und mit der organischen gemischt. Nach kurzem, heftigem Rühren wurde von der Emulsion jeweils 7 mL in zwei Schraubdeckelgläser mit 0,5 mg AIBN und 0,6 mg Glucose gegeben, dabei wurde für das eine Glas die Mischung durch einen 0,2  $\mu$ m PESU-Spritzenvorsatzfilter filtriert. Die Gläser wurden verschlossen und später weiter verwendet.

Zusätzlich wurde jeweils etwa 1 mL in zwei Kunststoffküvetten gegeben, wiederum wurde dabei eine Probe filtriert. Die Küvetten wurden verschlossen und aus dem Bag entnommen und an einem Zetasizer Nano S der Firma Malvern Instruments Ltd. vermessen.

Während dessen wurde die Mischung im Glovebag auf zwei Gläser aufgeteilt, wobei ein Teil filtriert wurde. Dann wurden je vier Membranen in den Lösungen imprägniert und für 20 min zur Reaktion hingehängt. Nach Ende der Reaktionszeit wurden die Membranen entnommen und 10 min mit Wasser gewaschen. Anschließend wurden sie gemäß der Standardvorschrift sulfoniert und danach charakterisiert.

Die Schraubdeckelgläser wurden 2 h auf 80 °C erwärmt und danach im Wasserbad abgekühlt. Sie wurden in Aluminiumschalen entleert, der Feststoff getrocknet und die Masse bestimmt.

#### 10.7 Analytik der Funktionalisierten Membran

Die Charakterisierung der sulfonierten Membranen folgte Standartvorschriften. Dabei werden anwendungsspezifische Kenngrößen der Membran gemessen. Diese sind die spezifische Permeabilität v sowie die statischen Bindungskapazitäten für Natrium-Ionen und die Proteine Lysozym und Globulin.

### 10.7.1 Für die Membrancharakterisierung verwendete Lösungen

Die verwendeten Lösungen und Puffer wurden folgendermaßen hergestellt.

# Kaliumphosphat-Puffer

Für den Kaliumphosphat-Puffer (KPi) wurde eine 2 molare Stammlösung angesetzt. Dafür wurden 541,5 g Wasser vorgelegt und unter Rühren 208,5 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> gelöst. Außerdem wurde 117,0 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> in 383,0 g Wasser bei 50 °C gelöst. Die K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung wurde vorgelegt und mit der KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Lösung auf pH 7 eingestellt.

Zur Verwendung wurde die ungefähr benötigte Menge an Wasser vorgelegt und mit der Pufferlösung die Leitfähigkeit auf 1,75 mS cm<sup>-1</sup> eingestellt, was einem pH von 7 und einer Konzentration von ca. 10 mmol l<sup>-1</sup> entspricht.

#### Salzsäure

Für die 1 M Salzsäure wurde ein Titrisol-Konzentrat der Firma Merck für 1 mol/l Salzsäure entsprechend der Anleitung auf einen Liter mit Wasser aufgefüllt.

Für die 1 mM Salzsäure wurde ein Milliliter der 1 M in einem Maßkolben auf einen Liter verdünnt.

### 1 M Natriumchloridlösung

Die benötigte Menge Wasser wurde vorgelegt und Natriumchlorid unter Rühren darin gelöst, bis die Leitfähigkeit etwa bei 85,3 mS cm<sup>-1</sup> lag.

### 5 mM Natronlauge

Für die 5 mM Natronlauge wurde ein Titrisol-Konzentrat der Firma Merck für 0,01 mol/l Natronlauge auf zwei Liter mit Wasser aufgefüllt.

### Bindungspuffer Lysozym

Der Bindungspuffer wurde durch Lösen von 0,2 wt-% Lysozym in KPi-Puffer hergestellt.

### Elutionspuffer Lysozym

Der Elutionspuffer wurde durch Zugabe von Natriumchlorid zum KPi-Puffer bis zu einer Leitfähigkeit von ca. 84-95 mS cm<sup>-2</sup> hergestellt.

## Natriumacetatpuffer

740 g Wasser wurde vorgelegt und 60,05 g Essigsäure (100 %) zugegeben. Mit 32 %-iger Natronlauge wurde der pH auf 5,0 eingestellt und die Lösung auf 1 l aufgefüllt. Zur Verwendung wurde die benötigte Menge an Wasser vorgelegt und mit dem Stammpuffer eine Leitfähigkeit von 1,25 mS cm<sup>-2</sup> eingestellt.

## Bindungspuffer γ-Globulin

Der Bindungspuffer wurde durch Lösen von 0,1 wt-% in Acetatpuffer hergestellt. Vor Verwendung wurde die Lösung durch eine 0,22 µm PESU-Membran filtriert.

### Elutionspuffer γ-Globulin

Der Elutionspuffer für  $\gamma$ -Globulin wurde durch Zugabe von Natriumchlorid zum Acetatpuffer hergestellt, bis eine Leitfähigkeit von ca. 87-90 mS cm<sup>-2</sup> erreicht wurde.

#### 10.7.2 Bestimmung der spezifischen Permeabilität

Für die Bestimmung des Flusses wurden die trockenen Membranen kurz in Wasser getaucht um sie maximal zu quellen und mit einer Metallstanze mit 47 mm Durchmesser Ronden hergestellt, die in die Durchflussapparatur eingebaut wurden.

Diese besteht aus acht identischen Metallzylindern mit ca. 300 mL Volumen (Stainless Steel Pressure Holder, 200 mL Capacity, Sartorius Stedim Biotech, Göttingen). Per Computer können die Zellen über eine Schlauchpumpe mit einer vorbereiteten Lösung befüllt werden. Wenn etwa 250 mL in jeder Zelle vorgelegt sind, wird ein Druck von ungefähr 100 mbar aufgebaut. Wird der Hahn an der Zelle geöffnet, strömt die Lösung durch die Membran und wird in einem Becherglas auf einer Waage aufgefangen. Sowie die Waage eine Änderung des Gewichts feststellt, beginnt die Software die Zeit zu stoppen, bis es einen voreingestellten Wert erreicht. Aus der gemessenen Zeit, dem eingestellten Druck, der Masse und der vorgegebenen Anströmfläche wird dann automatisch der Durchfluss nach folgender Formel bestimmt:



Abbildung 64: Skizze der Durchflussapparatur

$$\nu / \mathrm{ml}\,\mathrm{min}^{-1}\mathrm{bar}^{-1}\mathrm{cm}^{-2} = \frac{V}{t \cdot A_{\mathrm{a}} \cdot p}$$
(28)

Im ersten Durchgang wird üblicherweise mit Wasser gemessen, die Anlage anschließend mit KPi-Puffer gespült und danach mit dem Puffer gemessen.

#### 10.7.3 Bestimmung der Statischen ionischen Bindungskapazität

Zur Bestimmung der ionischen Bindungskapazität werden die Membranen zu runden Scheiben mit einem Durchmesser von 30 mm gestanzt. Diese werden luftblasenfrei in Metallgehäuse eingebaut. Vor der Messung wird die verwendete Schlauchpumpe mit den Lösungen gespült, um Gasreste aus den Schläuchen zu treiben. Die Lösungen sind: demineralisiertes Wasser, 1 mM und 1 M Salzsäure und 1 M Natriumchloridlösung.

Mit einer Flussrate von ungefähr 5 ml min<sup>-1</sup> werden je vier Minuten nacheinander die Natriumchloridlösung, die 1 M, dann die 1 mM Salzsäure und zuletzt Wasser durch die Membran gefördert. Die Lösungen werden verworfen und 1 M Natriumchloridlösung durch die Membran geleitet. Diese wird aufgefangen und an einem Titrierautomaten Titrando 836 der Firma Metrohm mit 0,05 M Natronlauge titriert. Dabei werdeb der pH und das verbrauchte Volumen an Base aufgezeichnet und aus den erhaltenen Werten nach folgender Formel die statische ionische Bindungskapazität berechnet.

$$\frac{1000 \cdot c_{\text{NaOH}} \cdot \tau \cdot \frac{7 - \text{pH}_1 - V_1 \frac{\text{pH}_1 - \text{pH}_2}{V_1 - V_2}}{\frac{\text{pH}_1 - \text{pH}_2}{V_1 - V_2}}$$
(29)

 $c_{\text{ion}}$  ist die ionische Kapazität,  $c_{\text{NaOH}}$  die Konzentration der Base,  $\tau$  der Titer und pH<sub>1</sub>, pH<sub>2</sub> sowie  $V_1$ ,  $V_2$  der pH-Wert und das verbrauchte Volumen an Base am ersten und zweiten Äquivalenzpunkt.

Nach der Messung wurden die Membranen ausgebaut und mit Wasser gespült.

#### 10.7.4 Bestimmung der statischen Proteinbindungskapazität

Die Bestimmung der Bindungskapazität erfolgte für die beiden Proteine Lysozym und  $\gamma$ -Globulin auf analoge Weise.

Die Membranen wurden nach der Bestimmung der ionischen Kapazität wiederum in die Metallgehäuse eingebaut. Die Schlauchpumpe wurde durch Spülen der Schläuche und Entfernen von Luftblasen vorbereitet und die Gehäuse angeschlossen. Die Pumpe wurde auf eine Fördergeschwindigkeit von 5 ml min<sup>-1</sup> eingestellt. Die Proteinstammlösung wurde an einem Spektralphotometer Specord 200 plus der Firma Analytik Jena AG mit Sipper-Einsatz bei 280 nm gemessen. Im Falle des Lysozyms wurde die Proteinlösung davor noch 1:10 verdünnt.

Zuerst wurde eine Minute mit dem jeweiligen Elutionspuffer gespült, dann zwei Minuten mit Pufferlösung, sechs mit Proteinlösung und vier mit Pufferlösung. Die Lösungen wurden verworfen. Anschließend wurde zwei Minuten Elutionspuffer gefördert und die Lösung in Reagenzgläsern aufgefangen.

Die aufgefangene Proteinlösung wurde gegen ein leeres Reagenzglas gewogen und die Absorption bei 280 nm gemessen. Die Bindungskapazität berechnet sich dann nach der Formel

$$c_{\text{Protein}} \,/\, \text{mg}\,\text{cm}^{-2} = \frac{E \cdot c \cdot m}{E_0 \cdot A} \tag{30}$$

mit der Extinktion der Probe *E*, der Ausgangskonzentration *c* der Proteinlösung in mg ml<sup>-1</sup>, der Masse der Lösung *m*, der Extinktion der Ausgangslösung  $E_0$  und der Anströmfläche  $A_a$ .

#### 10.8 Zersetzung der gepfropften Membran

Die zu zersetzenden Membranen wurden auf eine Größe von ca. 2x2 cm geschnitten. Sie wurden in Kolben gegeben und mit 30 mL konz. Salzsäure übergossen. Um vollständige Benetzung zu gewährleisten, wurden die Membranstücke mit einem Glasstab untergetaucht. Die Kolben wurden gelegentlich leicht geschwenkt und über Nacht stehen gelassen. Vor der Neutralisation wurden die Kolben in ein Eisbad gegeben und etwas Methylorange zugetropft. Anschließend wurde Natronlauge bis zum Farbumschlag zugegeben. Wenn sich dabei bereits ein Niederschlag von NaCl bildete, wurde etwas ROW zugegeben, um eine homogene Lösung zu behalten. Nach dem Farbumschlag zu gelb wurde mit 1 M HCl wieder angesäuert, um einen Abbau des Vlieses bei zu hohem pH zu vermeiden. Abschließend wurde noch konz. NaHCO<sub>3</sub> zugetropft, bis der Farbumschlag wieder stattgefunden hatte.

Die Lösung wurde durch einen groben Filter (ca. 1 mm Porendurchmesser) in einen Scheidetrichter gegeben und zweimal mit Dichlormethan ausgeschüttelt. Das Dichlormethan wurde auch genutzt, um die Vliesreste im Filter zu waschen.

Die organischen Phasen wurden vereinigt und mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Die Lösung wurde bis auf ein Minimum eingeengt und das Polymer durch Zugabe von Et<sub>2</sub>O gefällt. Der Feststoff wurde im Vakuum getrocknet.

#### Zersetzung mit Cellulase

Vier Membranstanzlinge von je 63 mm Durchmesser wurden zerschnitten und in einen Kolben gegeben, in dem 0,5 g Cellulase in 50 mL Natriumacetatpuffer bei pH 5 vorgelegt war. Die Mischung wurde 3 Tage bei ca. 35 °C gerührt. Da sich keine Änderung der Membran zeigte, wurde die Probe verworfen.

#### 10.9 Bestimmung der Dichte an oberflächengebundenem Initiator

Für den Nachweis wird von dem oberflächengebundenem Initiator Bromid eliminiert. Dieses wird durch Reaktion mit Chloramin-T zu molekularem Brom oxidiert. Im Anschluss erfolgt eine Reaktion des Broms mit Phenolrot ( $\lambda_{max} = 356$  nm), das zu Bromphenolblau ( $\lambda_{max} = 589$  nm) umgesetzt wird. Die Erhöhung der Absorbanz des Bromphenolblaus bei 589 nm wird photometrisch bestimmt und eine Kalibrationsgerade angefertigt.

Eliminierung des Bromids





Schema 36: Quantitativer Nachweis des gebundenen Initiators. Durch Eliminierung mit Natronlauge wird Bromid abgespalten, das mit Chloramin-T zu molekularem Brom oxidiert wird. Dieses reagiert mit Phenolrot zu Bromphenolblau. Zu beachten ist, dass die Chloramin-T-Lösung täglich frisch angesetzt werden muss, da die Substanz gelöst nicht langzeitstabil ist. Außerdem darf das Mengenverhältnis des enthaltenen Bromids und des Farbstoffes nicht zu groß werden. Jedes Farbstoffmolekül kann mit vier Brommolekülen reagieren. Ist die Konzentration an Brom höher, führt dies zu einem Abbau des gebildeten Farbstoffs, sodass die Absorbanz wieder abnimmt. Um dem Vorzubeugen wurden die Proben mit unterschiedlichen Mengen an Wasser versetzt um eine optimale Verdünnung zu erreichen, bei der der gesamte Konzentrationsbereich zugänglich ist. Die unten angegebene Zugabe an Wasser hat sich als optimal in diesem Konzentrationsbereich erwiesen.

## Natriumacetatpuffer

Natriumacetat (68 g) wurde in Wasser (200 mL) gelöst und Eisessig (30 mL) hinzugegeben. Die Lösung wurde mit Wasser auf 1 L verdünnt und der pH-Wert auf 4,7 eingestellt.

## Phenolrot-Lösung

200 mL Wasser wurde mit Phenolrot (120 mg) versetzt. Natronlauge (0,1 м, 12 mL) wurde zugegeben und mit Wasser auf 1 L aufgefüllt.

## Erstellung der Kalibrationslösungen

Von einer 0,1 g/L Kaliumbromid Stammlösung wurden Verdünnungen entsprechend folgender Tabelle hergestellt.

Tabelle 6: Bromidkonzentrationen der Stammlösungen.

Volumen Stammlösung / mL	200	400	800	1200	1600	2000
Bromidmenge / μg mL-1	2	4	8	12	16	20

Jeweils 5 mL der Lösungen wurde in einen 10 mL Maßkolben gegeben und Natriumacetatpuffer (2 mL) und Phenolrot-Lösung (1,25 mL) zugegeben. Chloramin-T-Lösung (1,2 g/L, 300  $\mu$ L) wurde zugegeben und eine Minute geschüttelt. Anschließend wurde sofort Natriumthiosulfatlösung (25 g/L, 500  $\mu$ L) zugegeben und mit Wasser auf 10 mL aufgefüllt. Die Lösung wurde bei 585 nm an einem Photometer vermessen. Werte wurden dreifach bestimmt, gemittelt und zur Erstellung einer Kalibriergeraden verwendet, die unten dargestellt ist.



Tabelle 7: Mittelwerte zur Kalibration der Brombestimmung.

Abbildung 65: Kalibriergerade für die Konzentrationsbestimmung von Bromidionen. Die Ausgleichsgerade entspricht der Formel  $a = 0.0185 \cdot m - 0.0259$ .

Bei bekannter Absorbanz a kann damit die in Lösung befindliche Bromidmenge berechnet werden nach:

$$m_{\rm Bromid}/\mu g = \frac{a + 0.0259}{0.0185}$$
 (31)

### Membranuntersuchung

Die Membranprobe wurde in eine 25 mL Laborflasche gegeben, Natronlauge (2 M, 20 mL) zugefügt und 45 min bei 50 °C geschüttelt. Nach Abkühlen der Mischung wurden 10 mL entnommen und, durch einen 0,2 µm-Filter filtriert und in einem 20 mL Maßkolben mit einem Tropfen Phenolrot-Lösung angefärbt. Es wurde Schwefelsäure (1,5 M) bis zum Farbumschlag zugetropft und mit Wasser auf 20 mL aufgefüllt.

Von der Lösung wurden 5 mL entnommen und analog der Kalibrierstandards behandelt. Die erhaltene Absorbanz wurde gemäß folgender Formel unter Berücksichtigung des aus der Probenvorbereitung resultierenden Verdünnungsfaktors von 0,125 in eine Stoffmenge pro Gramm Membran umgerechnet.

$$\delta/\mu \text{mol g}^{-1} = \frac{\frac{a + 0.0259}{0.0185}}{0.125 \cdot M_{\text{Br}} \cdot m_{\text{Membran}}}$$
(32)

Dabei ist *A* die gemessene Absorbanz,  $M_{Br}$  die Molmasse von Brom und  $m_{Membran}$  die Masse der eingesetzten Membran.

Zur Validierung der Methode wurde eine Messreihe durchgeführt, bei der bekannte Konzentrationen von 2-Bbb statt der Membran zugegegeben wurden.

## 10.10 AFM-UNTERSUCHUNGEN

Für die AFM-Untersuchungen wurde ein Bruker Multimode 8 unter Schutzgas in einer Glovebox verwendet. Die Steuerung erfolgte mittels des Programms NanoScope 8.15, die Auswertung mit NanoScope Analysis 1.40. Zur Messung wurden Cantilever ScanAsystAIR der Firma Veeco mit einer Federkonstante von 0,4 N m<sup>-1</sup> verwendet. Die Proben wurden auf Metallträger aufgeklebt.

Messungen wurden mit  $512 \cdot 512$  Bildpunkten aufgenommen bei einer Messrate von 1 Hz.

### 10.11 REM-UNTERSUCHUNGEN

Die REM-Untersuchungen wurden an einem FEI Quanta 200F angefertigt. Die Proben wurden zuvor mit Gold beschichtet und anschließend unter Hochvakuum die Aufnahmen angefertigt. Die Hochspannung wurde zwischen 2 und 20 kV gewählt, die Spotsize zwischen 1.0 und 8.0.

### 10.12 GPC-UNTERSUCHUNGEN

Zur Bestimmung der molaren Massen und Molmassenverteilungen wurden die Proben in THF gelöst, sodass eine Konzentration von ca. 1 mg ml<sup>-1</sup> vorlag. In dem THF befand sich eine sehr geringe Menge Toluol (etwa 3 Tropfen auf 100 ml) als interner Standard. Nach vollständiger Lösung der Probe wurde die Lösung durch einen 0,45 µm Filter filtriert. Teilweise wurde bei sehr geringen Probenmengen etwas THF auch direkt in den Probekolben gegeben und geschwenkt und von dort entnommen und filtriert.

Die Probelösungen wurden in einem von zwei Geräten analysiert.

- Anlage 1: Waters 515 HPLC-Pumpe mit Autosampler Jasco AS-2055. Es wurden eine Vorsäule PSS SDV (8 · 300 mm, 5 μm Partikelgröße) und als Trennsäulen drei PSS SDV (8 · 300 mm, 5 μm Partikelgröße, Porengröße 10<sup>5</sup>, 10<sup>3</sup> und 10<sup>2</sup> Å) verwendet. Als Detektor wurde ein RI-Detektor Waters 2410 verwendet.
- Anlage 2: Agilent 1260 Infinity mit Autosampler, HPLC-Pumpe und integriertem RI-Detektor. Es wurden eine Vorsäule PSS SDV (8 · 500 mm, 5 μm Partikelgröße) und als Trennsäulen drei PSS SDV (8 · 300 mm, 5 μm Partikelgröße, Porengröße 10<sup>6</sup>, 10<sup>5</sup> und 10<sup>3</sup> Å) verwendet.

Die Messungen erfolgten bei 35 °C und einer Flussgeschwindigkeit von 1,0 mL min<sup>-1</sup>. Als Standard dienten PMMA Standards der Firma PSS. Für die PGMA-Proben wurde eine universelle Kalibration verwendet. Die dafür genutzten Mark-Houwing-Koeffizienten waren:

$$K = 2,78 \cdot 10^{-4} \text{ mL g}^{-1}$$
  
 $a = 0,537$ 

Die Auswertung erfolgte mit dem Programm WinGPC 6.20.

## 10.13 NMR-UNTERSUCHUNGEN

NMR-Messungen wurden an einem Bruker Avance 300 durchgeführt. Die Kalibration erfolgte dabei auf das Signal des Lösungsmittels (CDCl<sub>3</sub>: 7,26 ppm,  $D_2O$ : 4,79 ppm). Die Messungen erfolgten bei Raumtemperatur.

## 10.14 ESI-MS UNTERSUCHUNGEN

Massenspektren wurden aufgenommen an einem Bruker maXis-Spektrometer bei einer Sprühspannung von 3800 V und einer Kapillartemperatur von 180 °C bei 0,3 bar und 4,0 l min<sup>-1</sup> Inertgasstrom.

Alternativ wurden Messungen an einem Bruker microTOF aufgenommen. Die Sprühspannung betrug dabei 4500 V bei einer Kapillartemperatur von 180 °C, 0,4 bar Inertgas bei einem Fluss von 4,0 l min<sup>-1</sup>.

#### 10.15 Messung der dynamischen Kapazität

Die dynamischen Kapazitäten wurden an einem Äkta-Chromatographiesystem bestimmt. Die verwendeten Lösungen entsprachen denen der Messung der statischen Kapazität unter 10.7.1. Zu Beginn wurde das Totvolumen  $V_t$  des Aufbaus mit Aceton bestimmt. Anschließend wurde die Membran mit KPi-Puffer gespült und mit Lysozym beladen. Dabei wurde die Konzentration kontinuierlich hinter der Membran mittels eines UV/Vis-Detektors bei 280 nm bestimmt. Die dynamische Kapazität  $c_{dyn}$  errechnet sich dann nach

$$c_{\rm dyn}\left[\frac{\rm mg}{\rm cm^2}\right] = \frac{(V_{10\%} - V_{\rm t}) \cdot c_{\rm st}}{A}.$$
 (33)

Hier ist  $V_{10\%}$  das verbrauchte Volumen, wenn die Konzentration hinter der Membran 10 % der Ausgangskonzentration  $c_{st}$  erreicht, A ist die eingesetzte Membranfläche.

# 11 Abkürzungsverzeichnis

2-Bbb	2-Isobutyrylbromid
Aa	Anströmfläche / cm <sup>2</sup>
AFM	Atomic Force Microscopy
A <sub>Membran</sub>	Oberfläche der Membran
ATRP	Atom Transfer Radical Polymerization
С	Bindungskapazität pro Anströmfläche
С	Bindungskapazität pro Membranmasse
d	Membrandicke
$D_{ m g}$	Pfropfgrad
DLS	Dynamic Light Scattering
Ε	Effektivität der Umsetzung der Epoxide bei der Sulfonierung
ESI-MS	Electro-Spray-Ionisation Mass Spectrometry
GMA	Glycidylmethacrylat
GPC (SEC)	Gel Permeation Chromatography (Size Exclusion Chromatography)
Ji	Volumenstrom der Komponente i
K <sub>ATRP</sub>	ATRP-Gleichgewichtskonstante
KPi	Kaliumphosphatpuffer
MMA	Methylmethacrylat
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
p	Transmembrandruck
$P_i$	Permeabilität der Komponente i
REM	Rasterelektronenmikroskop
SEM	Scanning Electron Microscopy
V <sub>Mem</sub>	Membranvolumen
δ	Initiatordichte pro Gramm Membran/Quadratmeter Membran
ν	Membranpermeabilität/Membranfluss

# 12Abbildungen

Abbildung 1: Vergleich der Strömungsbedingungen an Gelpartikeln und Membranen	8
Abbildung 2: Verlauf der Bindungskapazitäten mit der Fließgeschwindigkeit	8
Abbildung 3: Großtechnische Methoden der Membranherstellung: Verdunstung	9
Abbildung 4: Großtechnische Methoden der Membranherstellung: Fällbad	10
Abbildung 5: Querschnitt einer asymmetrischen Polyethersulfon-Membran	10
Abbildung 6: Einteilung der Filtrationsarten nach Porengröße	12
Abbildung 7: Funktionsweise eines Ionenaustauschers	13
Abbildung 8: Isoelektrische Punkte typischer biologischer Komponenten	14
Abbildung 9: Zusammenhang von Bindungskapazität und Permeabilität	14
Abbildung 10: Direkte Oberflächenfunktionalisierung und Funktionalisierung mit Polymer	r.15
Abbildung 11: Prinzipieller Verlauf des Detektorsignals bei der Beladung einer Membran	16
Abbildung 12: Lineare Copolymere	19
Abbildung 13: Polymerarchitekturen	20
Abbildung 14: Schema der Emulsionspolymerisation	21
Abbildung 15: Unterschiedliche Ansätze bei der Polymerisation auf Oberflächen	22
Abbildung 16: SEM-Aufnahme von ungepfropfter und sulfonierter Membran (rechts)	38
Abbildung 17: SEM-Aufnahme von PGMA-gepfropfter Membran	38
Abbildung 18: Thermogravimetrische Untersuchung des zersetzten Materials	41
Abbildung 19: NMR-Spektrum von MMA gepfropfter, zersetzter Cellulose	42
Abbildung 20: Molmassenverteilung aus Zersetzung von MMA-gepfropften Membranen	43
Abbildung 21: Molmassenverteilung von mit MMA gepfropfter Glucose	44
Abbildung 22: AFM-Aufnahmen der Cellophanoberfläche	48
Abbildung 23: Abbildung der log(DMT)-Werte der Proben von Abbildung 22	48
Abbildung 24: Fehlerquelle bei der Bestimmung der Belegung anhand der Topographie	49
Abbildung 25: Bestimmung der Oberflächenbelegung anhand des DMT-Moduls	49
Abbildung 26: Normierte Molmassenverteilung von MMA-gepfropfter Cellobiose	52
Abbildung 27: Positives ESI-Massenspektrum des ( <i>tert</i> -Butoxymethyl)oxirans	55
Abbildung 28: NMR-Spektrum des umgesetzten ( <i>tert</i> -Butoxymethyl)oxirans	56
Abbildung 29: Partikelgrößen der Emulsionen	58
Abbildung 30: Messung der Dynamischen Kapazität der filtrierten Probe	59
Abbildung 31: Eigenschaften einer in Isopropanol/Wasser gepfropften Membran	61
Abbildung 32: Ermittelte Initiatordichten auf der Membran	66
Abbildung 33: Bestimmung der Initiatordichten gleichzeitig umgesetzter Proben	69
Abbildung 34: Verwendeter Kupferkomplex Di(2,2'-Bipyridyl)Kupfer(II)	69
Abbildung 35: AFM-Untersuchung von mit ATRP/MMA-gepfropftem Cellophan	71

Abbildung 36: AFM-Untersuchung von mit ATRP/GMA-gepfropftem Cellophan72
Abbildung 37: Abhängigkeit des Pfropfgrades von der Initiatordichte73
Abbildung 38: Pfropfgrad in Abhängigkeit der eingesetzten Konzentration von 2-Bbb74
Abbildung 39: Spezifische Permeabilität in Abhängigkeit der Konzentration von 2-Bbb75
Abbildung 40: REM-Aufnahmen von ATRP-gepfropfter Membran
Abbildung 41: Ionische Kapazitäten in Abhängigkeit von der Konzentration an 2-Bbb
Abbildung 42: Lysozym-Bindungskapazitäten in Abhängigkeit der Initiatorkonzentration79
Abbildung 43: Bindungskapazität (γ-Globulin) in Abhängigkeit der Initiatorkonzentration80
Abbildung 44: Ausgewählte Molmassenverteilung der ATR-Polymerisation auf Glucose81
Abbildung 45: Auftragung der Molmassen und Dispersitäten gegen die Polymerisationszeit 82
Abbildung 46: Auftragung der Pfropfgrade mit MMA unter ATRP-Bedingungen
Abbildung 47: Molmassen und Dispersitäten der isolierten Polymere
Abbildung 48: Pfropfgrade in Abhängigkeit der Polymerisationszeit
Abbildung 49: Permeabilitäten in Abhängigkeit der Polymerisationszeit
Abbildung 50: Ionische Kapazitäten in Abhängigkeit der Pfropfzeit
Abbildung 51: Bindungskapazitäten für Lysozym in Abhängigkeit der Pfropfzeit90
Abbildung 52: Bindungskapazitäten für γ-Globulin in Abhängigkeit der Pfropfzeit90
Abbildung 53: Auf Basis des Bindungsmodells ermittelte Kettendichten
Abbildung 54: Pro Polymerkette verfügbare Fläche, der Grenzwert liegt etwa bei 0,25 nm <sup>-1</sup> .96
Abbildung 55: Verhältnis von ionischer Kapazität zur Anzahl gepfropfter Monomere
Abbildung 56: Lysozym-Kapazitäten ATRP im Vergleich mit Cer-gepfropften Membranen. 100
Abbildung 57: Dynamische Lysozym-Kapazität einer ATRP gepfropften Membran
Abbildung 58: Statischen $\gamma$ -Globulin-Kapazitäten der mit ATRP hergestellten Membranen 102
Abbildung 59: Verhältnisse der Bindungskapazitäten für die beiden Proteine
Abbildung 60: Abhängigkeit der Lysozym- und Globulinbindung
Abbildung 61: AFM-Aufnahme von PMMA gepfropftem Cellophan
Abbildung 62: Auftragung der Produkte der normierten Flüsse und Kapazitäten
Abbildung 63: Skizze des zur ATR-Polymerisation auf Membranen verwendeten Aufbaus. 115
Abbildung 64: Skizze der Durchflussapparatur119
Abbildung 65: Kalibriergerade für Konzentrationsbestimmung von Bromidionen124

# 13 Schemata

Schema 1: Beispiele für Vernetzungsreagenzien	11
Schema 2: Beispiele für typische Liganden	12
Schema 3: Radikalische Polymerisation	18
Schema 4: Oberflächenfixierung eines Polymers mittels Click-Chemie	22
Schema 5: Strahlungsinduzierte Pfropfung an Oberflächen	23
Schema 6: Mechanismus der Radikalbildung mit Alkoholen und Cer <sup>1V</sup>	24
Schema 7: Zwei Wiederholeinheiten der Cellulose mit Nummerierung	24
Schema 8: Mechanismen der Pfropfung von Cellulose mit Cer	25
Schema 9: Darstellung des ATRP-Prozesses	27
Schema 10: Prinzip der Trennung unterschiedlicher Polymermassen durch GPC	29
Schema 11: Funktionsweise eines Rasterelektronenmikroskops	31
Schema 12: Funktionsprinzip des AFM	32
Schema 13: Monomer Glycidylmethacrylat (GMA) und sulfonierte Form	34
Schema 14: Darstellung der Membranquellung	36
Schema 15: Grundlage Berechnung der Länge pro Monomereinheit einer Polymerkette	37
Schema 16: Modellverbindung ohne Vernetzungsmöglichkeit: Methylmethacrylat (MMA)	41
Schema 17: Mögliche Abläufe der Polymerisation auf Cellulose mit Emulgator	45
Schema 18: β-Cyclodextrin, cyclische Verbindung aus sieben Glucosemolekülen	51
Schema 19: Cellobiose, das Dimere der Glucose und analoges Bindungsmotiv zur Cellulose	. 51
Schema 20: Zersetzung von mit MMA gepfropfter Cellobiose	. 53
Schema 21: Mögliche Vernetzungsreaktionen des Monomers GMA	54
Schema 22: Modellverbindung zur Epoxidöffnung: ( <i>tert</i> -Butoxymethyl)oxiran	54
Schema 23: Darstellung der Bindung auf unterschiedlich homogenen Oberflächen	62
Schema 24: Alternative Bindung von Proteinen nach der Pfropfung mit Isopropanol	63
Schema 25: Freie Vorstufe des ATRP-Initiators: 2-Bromoiso-butyrylbromid (2-Bbb)	64
Schema 26: Reaktion des 2-Bbb auf der Oberfläche der Cellulose	65
Schema 27: Darstellung des Einflusses von 2-Bbb auf die Quellung von Cellulose	67
Schema 28: Darstellung der Anordnung des Polymers bei unterschiedlicher Kettendichte	76
Schema 29: Beschleunigung des Polymerwachstums an dichten Oberflächen	85
Schema 30: Vermutliche Bindung von Proteinen auf der Membranoberfläche	93
Schema 31: Berechnungsgrundlage für die Kettenlänge und –dichte	95
Schema 32: Eine Ebene in dichtester Kugelpackung	97
Schema 33: all- <i>trans</i> -Anordnung und Anpassung der Polymere an die Form der Proteine	98
Schema 34: Bindung von Proteinen mit und ohne Vernetzung	104
Schema 35: Sulfonierung des PGMA	116
Schema 36: Quantitativer Nachweis des gebundenen Initiators	122

# 14 LITERATURVERZEICHNIS

- (1) McNally, D. J.; Darling, D.; Farzaneh, F.; Levison, P. R.; Slater, N. K. H. *J. Chromatogr. A* **2014**, *1340*, 24–32.
- (2) Roberts, P. L. *Biotechnol. Prog.* **2014**, *3*.
- (3) Sadavarte, R.; Spearman, M.; Okun, N.; Butler, M.; Ghosh, R. *Biotechnol. Bioeng.* **2014**, *111*, 1139–1149.
- (4) Bhadouria, A. S.; Sorci, M.; Gu, M.; Belfort, G.; Hahn, J. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2014**, *53*, 5103–5109.
- (5) Soetaert, W.; Vandamme, E. J. *Industrial Biotechnology: Sustainable Growth and Economoc Success*; John Wiley & Sons: Hoboken, 2010; p. 285.
- (6) Walsh, G. *Proteins: Biochemistry and biotechnology*; 2nd ed.; Wiley-Blackwell: Hoboken, 2014; p. 110.
- (7) Weaver, J.; Husson, S. M.; Murphy, L.; Wickramasinghe, S. R. *Biotechnol. Bioeng.* **2013**, *110*, 491–499.
- (8) Ramakrishna, S.; Ma, Z.; Takeshi, M. *Polymer Membranes in Biotechnology: Preparation, Functionalization an Application*; Imperial College Press: London, 2011; p. 170.
- (9) Miesegaes, G. R.; Lute, S. C.; Read, E. K.; Brorson, K. a. *Biotechnol. Prog.* **2014**, *30*, 124–131.
- (10) Charkoudian, J. 2011: Epoxide-crosslinked, charged cellulosic membrane. EP1470854 B1.
- (11) Rendall, J. 1975: Preparation of cellulosic semi-permeable membranes. US 3 864 289.
- (12) Carey, F.; Sundberg, R. *Advanced Organic Chemistry; Part B: Reactions and Synthesis*; 5. ed.; Springer Science+Business Media, LLC: Charlottesville, USA, 2007; p. 1104.
- (13) Paul, S.; Ranby, B. *Macromolecules* **1976**, *9*, 337–340.
- (14) Goldfinger, G.; Heffelfinger, C. J. Polym. Sci. **1954**, 13, 123–130.
- (15) Thieke, B. *Makromolekulare Chemie Eine Einführung*; 2nd ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2012.
- (16) IUPAC. Compendium of Chemical Terminology Gold Book; 2.3.3 ed.; 2014; Vol. 2.3.3.
- (17) Ebeling, B.; Ehlers, F.; Vana, P. Nachrichten aus der Chemie 2014, 62, 24–28.
- (18) Yameen, B.; Ali, M.; Álvarez, M.; Neumann, R.; Ensinger, W.; Knoll, W.; Azzaroni, O. *Polym. Chem.* **2010**, *1*, 183.

- (19) Filpponen, I.; Kontturi, E.; Nummelin, S.; Rosilo, H.; Kolehmainen, E.; Ikkala, O.; Laine, J. *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 736–742.
- (20) Grasselli, M.; Carbajal, M. L.; Yoshii, F.; Sugo, T. J. Appl. Polym. Sci. 2002, 87, 1646–1653.
- (21) Shukla, S. R.; Gopala Rao, G. V.; Athalye, a. R. J. Appl. Polym. Sci. 1992, 45, 1341–1354.
- (22) Schulze, A.; Marquardt, B.; Kaczmarek, S.; Schubert, R.; Prager, A.; Buchmeiser, M. R. *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31*, 467–472.
- (23) Nady, N.; Schroën, K.; Franssen, M. C. R.; Lagen, B. Van; Murali, S.; Boom, R. M.; Mohyeldin, M. S.; Zuilhof, H. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2011**, *3*, 801–810.
- (24) Holleman, A. F.; Wiberg, N. *Lehrbuch der anorganischen Chemie*; 102. ed.; Walter de Gruyter & Co.: Berlin, 2007; pp. 1930–1931.
- (25) Ali, M.; Kriedelbaugh, D.; Wencewicz, T. Synthesis 2007, 3507–3511.
- (26) Kim, S. S.; Jung, H. C. Synthesis **2003**, 2135–2137.
- (27) Mino, G.; Kaizerman, S. J. Polym. Sci. 1958, 31, 242–243.
- (28) Duke, F. R.; Bremer, R. F. J. Am. Chem. Soc. **1951**, 5179-5181, 4–6.
- (29) Young, L. B.; Trahanovsky, W. S. J. Am. Chem. Soc. 1969, 91, 5060–5068.
- (30) Iwakura, Y.; Kurosaki, T.; Imai, Y. J. Polym. Sci. Part A 1965, 3, 1185–1193.
- (31) Pottenger, C. R.; Johnson, D. C. J. Polym. Sci. Part A-1 1970, 8, 301–318.
- (32) Arthur, J. C.; Baugh, P. J.; Hinojosa, O. J. Appl. Polym. Sci. 1966, 10, 1591–1606.
- (33) Fernández, M. D.; Guzmán, G. M. Br. Polym. J. 1989, 21, 413–419.
- (34) Casinos, I. *Polymer* **1992**, *33*, 1304–1315.
- (35) Wen-Cheng, H.; Jen-Feng, K.; Chuh-Yung, C. J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem. **1993**, 31, 267–274.
- (36) Sarac, A. S.; Erbil, C.; Soydan, A. B. J. Appl. Polym. Sci. **1992**, 44, 877–881.
- (37) Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H. Acc. Chem. Res. 2008, 41, 1133–1142.
- (38) Jenkins, A. D.; Jones, R. G.; Moad, G. Pure Appl. Chem. 2009, 82, 483–491.
- (39) Kim, D.-M.; Nauman, E. B. Ind. Eng. Chem. Res. 1997, 36, 1088–1094.
- (40) Matyjaszewski, K. *Macromolecules* **2012**, *45*, 4015–4039.
- (41) Tsarevsky, N. V.; Braunecker, W. a.; Matyjaszewski, K. *J. Organomet. Chem.* **2007**, *692*, 3212–3222.

- (42) Tsarevsky, N. V.; Pintauer, T.; Matyjaszewski, K. *Macromolecules* **2004**, *37*, 9768–9778.
- (43) Fischer, H. *Macromolecules* **1997**, *30*, 5666–5672.
- (44) Davis, K. a.; Paik, H.; Matyjaszewski, K. *Macromolecules* **1999**, *32*, 1767–1776.
- (45) Poli, R.; Maria, S. Polym. Prepr. **2005**, 46, 305–306.
- (46) Braunecker, W. a.; Itami, Y.; Matyjaszewski, K. Macromolecules 2005, 38, 9402–9404.
- (47) Gibson, V. C.; Reilly, R. K. O.; Reed, W.; Wass, D. F.; White, J. P.; Williams, D. J. *Chem. Commun.* **2002**, *2*, 1850–1851.
- (48) Matyjaszewski, K.; Coca, S.; Gaynor, S. G.; Wei, M.; Woodworth, B. E. *Macromolecules* **1998**, *31*, 5967–5969.
- (49) Rosselgong, J.; Armes, S. P. *Macromolecules* **2012**, *45*, 2731–2737.
- (50) Tiers, G. V. D.; Bovey, F. A. J. Polym. Sci. Part A 1963, 1, 833–841.
- (51) Liu, J.; Loewe, R. S.; McCullough, R. D. *Macromolecules* **1999**, *32*, 5777–5785.
- (52) Vana, P.; Buback, M.; Frauendorf, H.; Gu, F. **2007**, *45*, 2453–2467.
- (53) An Introduction to Gel Permeation Chromatography and Size Exclusion Chromatography; www.agilent.com/chem/GPCresources; Agilent Technologies: U.S.A., 2014.
- (54) Grubisic, Z.; Rempp, P.; Benoit, H. Polym. Lett. 1967, 5, 753–759.
- (55) Gilding, D. K.; Coll, H. J. Polym. Sci. Part A-2 1970, 8, 89–103.
- (56) Kaemmer, S. Application Note # 133 Introduction to Bruker's ScanAsyst and PeakForce Tapping AFM Technology; Bruker Nano Surfaces Division, 2011.
- (57) Wedler, G. *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*; 4. ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 1997; p. 828.
- (58) De, S. K.; Aluru, N. R.; Johnson, B.; Crone, W. C.; Beebe, D. J.; Moore, J. J. *Microelectromechanical Syst.* **2002**, *11*, 544–555.
- (59) Siegel, R. A.; Firestone, B. A. *Macromol. Symp.* **1988**, *21*, 3254–3259.
- (60) Allen, F. H.; Kennard, O.; Watson, D. G.; Brammer, L.; Orpen, A. G. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 2 **1987**, 1–19.
- (61) Ortiz, C.; Hadziioannou, G. Macromolecules 1999, 32, 780–787.
- (62) Isogai, A. Cellulose **1997**, *4*, 99–107.
- (63) Halliwell, B. Y. G.; Bryant, M. P. *Microbiology* **1963**, *32*, 441–448.

134
- (64) Lee, S. B.; Koepsel, R. R.; Morley, S. W.; Matyjaszewski, K.; Sun, Y.; Russell, A. J. *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 877–882.
- (65) Roy, D.; Guthrie, J. T.; Perrier, S. *Macromolecules* **2005**, *38*, 10363–10372.
- (66) Voigt Global Distribution INC. Whatman Filters http://www.vgdusa.com/spreadsheets/whatman-filters-catalog-vgdusa.pdf (aufgerufen am 30. 09. 2014).
- (67) Lichti, G.; Gilbert, R. G.; Napper, D. H. *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* **1980**, *18*, 1297–1323.
- (68) Guo, Y.-Q.; Lclc, X.-H. L. J. Macromol. Sci. Part B Phys. 1999, 38, 439–447.
- (69) Liang, X.; Guo, Y.; Gu, L.; Ding, E. *Macromolecules* **1995**, *28*, 6551–6555.
- (70) Kim, J.; Bruening, M. L.; Baker, G. L. J. Am. Chem. Soc. 2000, 122, 7616–7617.
- (71) Shah, R. R.; Merreceyes, D.; Husemann, M.; Rees, I.; Abbott, N. L.; Hawker, C. J.; Hedrick, J. L. *Macromolecules* **2000**, *33*, 597–605.
- (72) Derjagin, B. V.; Muller, V. M.; Toporov, Y. G. J. Colloid Interface Sci. 1975, 53, 314–326.
- (73) NanoScope Analysis, Version 1.40, Bruker Corporation, 2012.
- (74) Blumstein, R.; Murphy, G. J.; Blumstein, A.; Watterson, A. C. *Polym. Lett.* **1973**, *11*, 21–23.
- (75) Elias, H.-G. *Makromoleküle Band 1: Chemische Struktur und Synthesen*; 6. ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 1999; p. 315.
- (76) Tobita, H.; Takada, Y.; Nomura, M. J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem. 1995, 33, 441–453.
- (77) Reis, A. V; Fajardo, A. R.; Schuquel, I. T. a; Guilherme, M. R.; Vidotti, G. J.; Rubira, A. F.; Muniz, E. C. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3750–3757.
- (78) Sridharan, V.; Menéndez, J. C. Chem. Rev. 2010, 110, 3805–3849.
- (79) Iranpoor, N.; Mohammadpour Baltork, I.; Shiriny Zardaloo, F. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 9861–9866.
- (80) Jamróz, M. E.; Jarosz, M.; Witowska-Jarosz, J.; Bednarek, E.; Tecza, W.; Jamróz, M. H.; Dobrowolski, J. C.; Kijeński, J. *Spectrochim. acta. Part A* **2007**, *67*, 980–988.
- (81) Salager, J.-L.; Perez-Sanchez, M.; Garcia, Y. Colloid Polym. Sci. 1996, 274, 81–84.
- (82) Abismaïl, B.; Canselier, J. .; Wilhelm, a. .; Delmas, H.; Gourdon, C. *Ultrason. Sonochem.* **1999**, *6*, 75–83.
- (83) Zeman, L. J.; Zydney, A. *Microfiltration and Ultrafiltration: Principles and Applications*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; pp. 14–15.

- (84) Van Reis, R.; Zydney, A. J. Memb. Sci. 2007, 297, 16–50.
- (85) Fernandez, M. D.; Fernandez, T.; Fernandez, M. J.; Guzmán, G. M. *J. Polym. Sci. Part A* **1984**, *22*, 2729–2732.
- (86) Kosiol, P. Atom Transfer Radikalische Polymerisation (ATRP) an Cellulosemembranen, Georg-August-Universität Göttingen, 2013, pp. 25–28.
- (87) Carlmark, A.; Malmström, E. E. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1740–1745.
- (88) Jones, D. M.; Brown, A. A.; Huck, W. T. S. *Langmuir* **2002**, *18*, 1265–1269.
- (89) Liu, Z.-J.; Liang, Y.-L.; Geng, F.-F.; Lv, F.; Dai, R.-J.; Zhang, Y.-K.; Deng, Y.-L. *Front. Mater. Sci.* **2012**, *6*, 60–68.
- (90) chemicalize.org and ChemAxon. chemicalize.org http://www.chemaxon.com (aufgerufen am 9. 10. 2014).
- (91) Jordan, R.; Ulman, A.; Kang, J. F.; Rafailovich, M. H.; Sokolov, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1016–1022.
- (92) Wang, X.-S.; Armes, S. P. *Macromolecules* **2000**, *33*, 6640–6647.
- (93) Tsujii, Y.; Ohno, K.; Yamamoto, S.; Goto, A. Adv. Polym. Sci. 2006, 197, 1–45.
- (94) Xia, J.; Gaynor, S. G.; Matyjaszewski, K. *Macromolecules* **1998**, *9297*, 5958–5959.
- (95) Wang, Y.; Matyjaszewski, K. *Macromolecules* **2010**, *43*, 4003–4005.
- (96) Behling, R. E.; Williams, B. a.; Staade, B. L.; Wolf, L. M.; Cochran, E. W. *Macromolecules* **2009**, *42*, 1867–1872.
- (97) Yamamoto, S.; Ejaz, M.; Tsujii, Y.; Fukuda, T. Macromolecules 2000, 33, 5608–5612.
- (98) Riedel, E. Anorganische Chemie; 6. ed.; de Gruyter: Berlin, 2004; p. 170.
- (99) Iwakura, Y.; Kurosaki, T.; Ariga, N.; Ito, T. *Die Makromol. Chemie* **1966**, *97*, 128–138.
- (100) Bowes, B. D.; Koku, H.; Czymmek, K. J.; Lenhoff, A. M. J. Chromatogr. A **2009**, 1216, 7774–7784.
- (101) O'Brian, J. L.; Gornick, F. J. Am. Chem. Soc. 1955, 77, 4757.

## 15 Anhang



Anhang 1: AFM-Aufnahmen von Cellophan. Links: Nach Kontakt mit Wasser. Rechts: Nach Kontakt mit Wasser und Cer<sup>IV</sup>.



Anhang 2: AFM-Aufnahmen von Cellophan, logarithmierte DMT-Moduln. Links: Nach Kontakt mit Wasser. Rechts: Nach Kontakt mit Wasser und Cer<sup>IV</sup>.



Anhang 3: AFM-Aufnahmen von mit ATRP für vier Stunden mit MMA gepfropften Membranen.



Anhang 4: Logarithmierte DMT-Moduln für 1 Stunde mit GMA/ATRP-gepfropfte Membranen.



Anhang 5: Logarithmierte DMT-Moduln für 1 Stunde mit GMA/ATRP-gepfropfte Membranen.



Anhang 6: Berechnete Konturlängen aus der Bindungskapazität des Lysozyms.



Anhang 7: Berechnete Konturlängen aus der Bindungskapazität des γ-Globulins.



Anhang 8: Auf Basis des Bindungsmodells ermittelte Kettendichten für γ-Globulin.



Anhang 9: Pro Polymerkette verfügbare Fläche für γ-Globulin, der Grenzwert liegt etwa bei 0,25 nm<sup>-1</sup>.