

Institut für Chemie – Supramolekulare Chemie

# **Sulfobetainhydrogele mit biomedizinischem Anwendungspotential und deren Netzwerkcharakterisierung im Gleichgewichtsquellzustand**

Zur Erlangung des akademischen Grades

„*doctor rerum naturalium*“ (*Dr. rer. nat.*)

In der wissenschaftlichen Disziplin: Polymerchemie

eingereicht an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Potsdam



von

**Ramona Bianca Jasmin Ihlenburg**

Eingereicht im März 2023

Disputation am 21.07.2023

Die Publikation ist durch das Urheberrecht und/oder verwandte Schutzrechte geschützt. Nutzende sind berechtigt, die Publikation in jeder Form zu nutzen, die das Urheberrechtsgesetz (UrhG) und/oder einschlägige verwandte Schutzrechte gestatten. Für weitere Nutzungsarten ist die Zustimmung der Rechteinhaber\*innen einzuholen.  
<https://rightsstatements.org/page/InC/1.0/>

1. Gutachter/Hauptbetreuer: Prof. Andreas Taubert
2. Gutachter: Prof. Joachim Koetz
3. Gutachterin: Prof. Albena Lederer

Online veröffentlicht auf dem  
Publikationsserver der Universität Potsdam:  
<https://doi.org/10.25932/publishup-60709>  
<https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:kobv:517-opus4-607093>

Für eine gemeinsame Zukunft

七転び、八起き。 - *Nana korobi, ya oki.*

"Siebenmal hinfallen, achtmal (wieder) aufstehen."

## Inhaltsverzeichnis

<b>I. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>V</b>
<b>II. STRUKTURVERZEICHNIS.....</b>	<b>IX</b>
<b>1. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2. THEORETISCHE GRUNDLAGEN.....</b>	<b>6</b>
2.1 Biominalisation.....	6
2.1.1 Calciumphosphat und dessen Biominerale .....	7
2.1.2 Calciumcarbonat und dessen Kristallsysteme.....	10
2.1.3 Keimbildung und Wachstum bei einer Kristallisation.....	14
2.2 Polymerisation.....	18
2.2.1 Freie radikalische Polymerisation (FRP).....	20
2.2.2 radikalische Photopolymerisation.....	23
2.2.3 Radikalische Redoxpolymerisation .....	25
2.2.4 Polyelektrolyte (PEL) mit dem Typus Polyzwitterionen .....	27
2.3 Analytische Methoden .....	29
2.3.1 Mechanische Analyse .....	29
2.3.2 Thermische Analyse.....	34
2.3.3 Analyse des Netzwerks.....	37
2.3.4 Analytik zur Modifikation von Calciumphosphat .....	51
2.3.5 Biologische Untersuchungsmethoden.....	53
<b>3. PUBLIKATIONEN.....</b>	<b>57</b>
<b>4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION .....</b>	<b>59</b>
4.1 Gelsynthese über eine freie radikalische Polymerisation in Wasser und Strukturaufklärung im Gleichgewichtsquellzustand.....	59
4.1.1 Synthese der Hydrogele.....	59
4.1.2 Thermische Eigenschaften der Hydrogele .....	66
4.1.3 Mechanische Eigenschaften der Hydrogele.....	73
4.1.4 Charakterisierung der Netzwerke.....	78
4.2 Hydrogele für die matrixgesteuerte Mineralisation von Calciumphosphat und -carbonat.....	107
4.2.1 Calciumphosphat-Mineralisation: In Lösung .....	107
4.2.2 Calciumphosphatmineralisation: Alternierendes Eintauchverfahren .....	116
4.2.3 Alternative Mineralisationsprozesse.....	125
4.2.4 Calciumcarbonat-Mineralisation.....	127
4.3 Wechselwirkungen vom Material mit biologischen Systemen .....	135
4.3.1 Vorbetrachtungen zur Wechselwirkung der Gele mit Zellmedien.....	135
4.3.2 Vorbetrachtungen zum Färbeverhalten der Hydrogele .....	138
4.3.3 Peptidadsorption auf dem Hydrogel B10.....	140
4.3.4 Wechselwirkung mit verschiedenen Bakterien .....	142
4.3.5 Analytik der <i>Dictyostelium discoideum</i> .....	144
4.3.6 Fibroblasten .....	146
4.3.7 Saos-2 Zellen.....	147

4.3.8	Chondrozyten (Knorpelzellen).....	151
4.4	Anwendungsspektrum durch Photopolymerisation und Redoxpolymerisation ..	155
4.4.1	Kryogele durch Redoxpolymerisation zur Anwendung als Filtermaterial.....	155
4.4.2	Membranen durch Photopolymerisation.....	162
4.4.3	Gemischte Hydrogele mit methacrylierter Gelatine .....	165
4.4.4	Kombination von Hydrogelen mit der Schmelzschichtung .....	168
4.4.5	Direkter 3D Druck über diverse Verfahren .....	169
4.4.6	Synthese von Ionogelen.....	170
4.4.7	Superabsorbierende Polymere (SAP) .....	171
<b>5.</b>	<b>LITERATURVERGLEICH .....</b>	<b>172</b>
<b>6.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK .....</b>	<b>186</b>
<b>7.</b>	<b>EXPERIMENTELLE METHODIK .....</b>	<b>197</b>
7.1	Synthese und Charakterisierung des Vernetzers TMBEMPA/Br .....	197
7.1.1	Verwendete Geräte .....	197
7.1.2	Verwendete Chemikalien .....	197
7.1.3	Durchführung .....	198
7.1.4	Charakterisierung.....	198
7.2	Synthese der Hydrogele über eine thermisch initiierte freie radikalische Polymerisation.....	200
7.2.1	Verwendete Geräte .....	200
7.2.2	Verwendete Chemikalien .....	201
7.2.3	Durchführung .....	201
7.2.4	Charakterisierung.....	202
7.3	Synthese der Hydrogele über eine freie radikalische Photopolymerisation.....	204
7.3.3	Verwendete Geräte .....	204
7.3.4	Verwendete Chemikalien .....	204
7.3.5	Durchführung .....	204
7.4	Synthese der Hydrogele über eine redoxinitiierte freie radikalische Polymerisation .....	206
7.4.3	Verwendete Geräte .....	206
7.4.4	Verwendete Chemikalien .....	207
7.4.5	Durchführung .....	207
7.4.4	Charakterisierung.....	208
7.5	Strategien zur Mineralisation von Calciumphosphat .....	208
7.5.4	Verwendete Geräte .....	208
7.5.5	Verwendete Chemikalien .....	208
7.5.6	Durchführung .....	209
7.6	Strategien der Mineralisation von Calciumcarbonat.....	210
7.6.4	Verwendete Geräte .....	210
7.6.5	Verwendete Chemikalien .....	210
7.6.6	Durchführung .....	210

<b>8. CHARAKTERISIERUNGSMETHODEN</b> .....	<b>211</b>
8.1 Bestimmung der Struktur.....	211
8.1.1 Elementaranalyse (EA) .....	211
8.1.2 Infrarotspektroskopie (IR)/ abgeschwächte Totalreflexion (ATR/IR) .....	211
8.1.3 Kernspinresonanzspektroskopie ( <sup>1</sup> H-NMR und <sup>13</sup> C-NMR).....	211
8.2 Charakterisierung der Gelierung.....	212
8.2.1 Umgekehrte Röhrchenmethode .....	212
8.2.2 SAXS .....	212
8.2.3 Zeitaufgelöste dynamische Lichtstreuung .....	212
8.3 Qualitative und quantitative Charakterisierung der Netzwerkstruktur .....	213
8.3.1 Rasterelektronenmikroskopie unter Tiefkühlbedingungen (Kryo-REM) .....	213
8.3.2 Röntgenkleinwinkelstreuung .....	213
8.3.3 Niederfeld-NMR-Spektroskopie .....	213
8.4 Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften.....	216
8.4.1 Dynamisch-mechanische Analyse (DMA).....	216
8.4.2 Rheologie.....	216
8.5 Charakterisierung der thermischen Eigenschaften .....	217
8.5.1 Thermogravimetrie (TGA) und Differenz-Thermoanalyse (DTA).....	217
8.5.2 Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC).....	217
8.6 Mineralisationsanalytik .....	217
8.6.1 Optische Lichtmikroskopie und pH-Wert Messungen .....	217
8.6.2 Raman-Spektroskopie.....	218
8.6.3 Rasterelektronenmikroskopie (REM) und Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDXS).....	218
8.6.4 Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD) .....	218
8.6.5 Trübungtitrationen .....	219
8.6.6 Quantitative Bestimmung mittels TGA .....	219
8.7 Biologische Tests .....	220
8.7.1 Zellverträglichkeitsstudien mittels <i>Dictyostelium discoideum</i> (Amöben) .....	220
8.7.2 Fibroblasten .....	221
8.7.3 SAOS-2 und Chondrozyten.....	221
8.7.4 E-coli.....	224
8.7.5 Phage Display M13 und Bindungstests.....	224
8.8 Anwendungsorientierte Analytik .....	225
8.8.1 Adsorptionsmessungen mittels UV-Vis Spektroskopie.....	225
8.8.2 Osmose.....	226
8.8.3 Horizontale Gelelektrophorese.....	227
8.8.4 Oberflächenmodifikation .....	227
8.8.5 3D-Druck mittels „Inkjet“-Verfahren.....	227
8.8.6 Fluoreszenzmessungen.....	228
8.8.7 Superabsorber .....	228

<b>III. ANHANG .....</b>	<b>VIII</b>
<b>IV. ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>XIV</b>
<b>V. TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>XX</b>
<b>VI. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>XXI</b>
<b>VII. SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG .....</b>	<b>XLVI</b>
<b>VIII. DANKSAGUNG .....</b>	<b>XLVII</b>

## I. Abkürzungsverzeichnis

2 D und 3 D	zweidimensional und dreidimensional
2 SBF	künstliche Plasmaflüssigkeit mit doppelter Ionenkonzentration (engl. „ <i>simulated body fluid</i> “)
Abb.	Abbildung
ACC	amorphes Calciumcarbonat
ACP	amorphes Calciumphosphat
AIBN	2,2'-Azo (2-methylpropionitrile)
anorg.	anorganisch
ANOVA	Varianzanalyse (engl. „ <i>analysis of variance</i> “)
AS	Aminosäure
ATP	Adenosintriphosphat
ATR-FTIR	abgeschwächte Totalreflexion–fouriertransformierte Infrarot Spektroskopie (engl. „ <i>attenuated total reflexion-fouriertransformed infrared-spectroscopy</i> “)
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
B10/50/100	SPE-Gel mit einem theoretischen Vernetzer zu Monomer Verhältnis von 1:10/1:50/1:100
B-Reihe	zusammenfassender Begriff für die Hydrogele B10, B50 und B100
BSA	Bovines Serumalbumin
bspw.	beispielsweise
bzw.	beziehungsweise
c	Konzentration
ca.	circa
Ca/P Verhältnis	Calcium zu Phosphor Verhältnis
chem.	chemisch
CONTIN	engl. „ <i>constrained regularization method</i> “
CDHA	Calcium-defizitäres Hydroxylapatit
CP	Calciumphosphat
d	Tag(e)
DAB-Modell	Debye-Anderson-Brumberger-Modell
DAPI	Diamidin-2-phenylindol
DCC	Dipolare Kopplungskonstante (engl. „ <i>dipolar coupling constant</i> “)
DCPA	Dicalciumphosphat-Anhydrat
DCPD	Dicalciumphosphat-Dihydrat; Brushit
DIN-Norm	Norm des Deuteschen Institut für Normung
DLS	Dynamische Lichtstreuung (engl. „ <i>dynamic light scattering</i> “)
DMA	dynamisch-mechanische Analyse
DMAEMA	2-(Dimethyl-amino)ethyl-methacrylat
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNS	Desoxyribonukleinsäure
D <sub>res</sub> ; D <sub>RDC</sub> ; D <sub>ij</sub>	residual dipolare Kopplungskonstante (engl. „ <i>residual dipolar coupling constant</i> “)

## Abkürzungsverzeichnis

---

DSC	Dynamische Differenzkalorimetrie (engl. " <i>differential scanning calorimetry</i> ")
DTA	Differenzthermoanalyse
DQ	Doppelquanten (engl. „ <i>double quantum</i> “)
<i>E. coli</i>	gramnegativen <i>Escherichia coli</i> Bakterien
EDXS	Energiedispersive Röntgenspektroskopie (engl. „ <i>energy dispersive X-ray spectroscopy</i> “)
engl.	englisch
EtOH	Ethanol
FBS	fetales Kälberserum (engl. „ <i>fetal bovine serum</i> “)
FID	freier Induktionszerfall (engl. " <i>free induced decay</i> ")
FRP	Freie radikalische Polymerisation
FT	Fouriertransformation
G50 bzw. G100	gemischtes Hydrogel aus SPE und methacrylierter Gelatine im theoretischen Verhältnis Vernetzer zu Monomer von 1:50 bzw. 1:100
Gew. %	Gewichtsprozent
GFP	grün fluoreszierendes Protein
GG.	Gleichgewicht
Gl.	Gleichung
h	Stunde
HAP	Hydroxylapatit
HE	Hahn-Echo
hpts.	hauptsächlich
HS	humanes Serum
i.d.R.	in der Regel
IG	Ionogel
IL	Ionische Flüssigkeit (engl. „ <i>ionic liquid</i> “)
IMDM	Iscove's Modified Dulbecco's Medium
IR-Spektroskopie	Infrarotspektroskopie (Transmission)
Irgacure D-2959	2-Hydroxy-1-[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]-2-methyl-1-propanon
IUPAC	engl. " <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> "
klass.	klassisch
KPDS	Kaliumperoxodisulfat
Kryo-Gel	SPE-Hydrogel synthetisiert über eine redoxinitiierte Polymerisation bei -32°C
Kryo-REM	Rasterelektronenmikroskopie mit Tieftemperaturtechnik (engl. " <i>scanning electron microscopy</i> "; SEM)
KWW	Kohlrausch-Williams-Watts
LCST	untere kritische Lösungstemperatur (engl. „ <i>lower critical solution temperatur</i> “)
LM	Lösungsmittel
Lsg.	wässrige Lösung
MB	Methylenblau
min	Minute
MJM	Multi-Jet Modeling
MO	Methylorange

MS	Massenspektrometrie
MSE	Magic-Sandwich-Echo (Pulssequenz)
MTBE	Methyl- <i>tert</i> -butylether
MTT-Test	Test mit Farbstoff 3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazoliumbromid
MQ	Multiquanten (engl. " <i>multiple quantum</i> ")
NMR-Spektroskopie	Kernspinresonanzspektroskopie (engl. " <i>nuclear magnetic resonance spectroscopy</i> ")
NOE	Kern-Overhauser-Effekt (engl. " <i>nuclear Overhauser effect</i> ")
o. Ä.	oder Ähnliches
OCP	Octacalciumphosphat
OD	optische Dichte
OM	optische Mikroskopie
Org.	organisch
OZ	Ornstein-Zernicke
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung (engl. " <i>phosphate-buffered saline</i> ")
PEL	Polyelektrolyt
photoB50	SPE-Gel mit theoretischem Verhältnis von Vernetzer zu Monomer von 1:50 synthetisiert über eine frei radikalische Photopolymerisation
PILP	engl. " <i>polymer induced liquid precursor</i> "
Redoxgel	SPE-Hydrogel synthetisiert über eine redoxinitiierte Polymerisation bei Raumtemperatur
REM	Rasterelektronenmikroskopie (engl. " <i>scanning electron microscopy</i> "; SEM)
RLU	relative Lichteinheiten (engl. " <i>relative light units</i> ")
RT	Raumtemperatur
S10	SPM-Gel mit einem theoretischen Vernetzer zu Monomer Verhältnis von 1:10
s.	siehe
SAP	superabsorbierendes Polymer
<i>S. aureus</i>	grampositiven <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> Bakterien
Saos-2 Zellen	osteogenes Sarkom (engl. " <i>Sarcoma osteogenic</i> ")
Satrec	Sättigungserholungsexperiment (engl. " <i>saturation recovery</i> ")
SAXS	Röntgenkleinwinkelstreuung (engl. " <i>small angle x-ray scattering</i> ")
SEM	Rasterelektronenmikroskopie (REM) (engl. " <i>scanning electron microscopy</i> ")
SLA	Stereolithographie
Smp.	Schmelzpunkt
s.o.	siehe oben
Sørensenpuffer	Pufferlösung aus den Teillösungen der Salze Kaliumdihydrogenphosphat und Natriumhydrogenphosphat Dihydrat mit der jeweiligen Konzentration von 0,0067 mol/L
SPE	N-(3-Sulfopropyl)-N-methacroyloxyethyl-N,N-dimethyl-ammonium-betain

SPE-Gel	Hydrogel aus dem Monomer N-(3-Sulfopropyl)-N-methacroyloxyethyl-N,N-dimethyl-ammonium-betain und dem Vernetzer N,N,N',N'-Tetramethyl-N,N'-bis(2-ethylmethacrylat)-propyl-1,3 diammoniumdibromid
SPM	3-Sulfopropylmethacrylat Kaliumsalz
SPM-Gel	Hydrogel aus dem Monomer 3-Sulfopropylmethacrylat Kaliumsalz und dem Vernetzer N,N,N',N'-Tetramethyl-N,N'-bis(2-ethylmethacrylat)-propyl-1,3 diammoniumdibromid
Syn.	synthetisch
T	Temperatur
t	(Reaktions)-zeit
T <sub>1</sub>	Spin-Gitter oder longitudinale Relaxation
T <sub>2</sub>	Spin-Spin oder transversale Relaxation
TA	Thermoanalyse
Tab.	Tabelle
τDQ	Entwicklungszeit der Doppelquanten (engl. " <i>DQ evolution time</i> ")
TGA	Thermogravimetrische Analyse
TMBEMPA/Br	N,N,N',N'-Tetramethyl-N,N'-bis(2-ethylmethacrylat)-propyl-1,3 diammoniumdibromid
TMAEMA	[2-(Methacryloyloxy)ethyl]triethylammoniumchlorid
TMAEMA-Gel	Hydrogel aus dem Monomer 2-(Methacryloyloxy)ethyl]triethylammoniumchlorid und dem Vernetzer N,N,N',N'-Tetramethyl-N,N'-bis(2-ethylmethacrylat)-propyl-1,3 diammoniumdibromid
T10	TMAEMA-Gel mit einem theoretischen Vernetzer zu Monomer Verhältnis von 1:10
TMEDA	N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin
TR-DLS	zeit aufgelöste dynamische Lichtstreuung (engl. " <i>time-resolved dynamic light scattering</i> ")
Tris-Puffer	Tris(hydroxymethyl)aminomethane
UCST	obere kritische Lösungstemperatur (engl. " <i>upper critical solution temperature</i> ")
UV- (Vis ) Licht	Ultraviolettes (sichtbares (engl. " <i>visible</i> ")) Licht
vgl.	vergleiche
w.E.	willkürliche Einheit
WW.	Wechselwirkung
XRD	Röntgenpulverdiffraktometrie (engl. " <i>X-ray diffraction</i> ")
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
v	Streckschwingungen
γ	Schaukelschwingungen

## II. Strukturverzeichnis

### II.1 Monomere

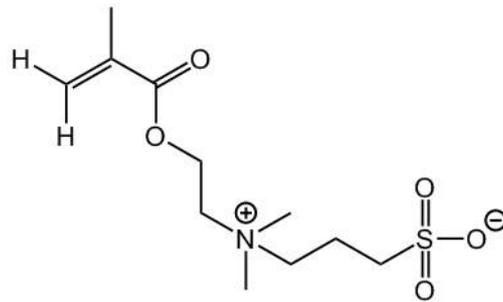


Abbildung II. 1: N-(3-Sulfopropyl)-N-methacroyloxyethyl-N,N-dimethyl-ammonium-betain (SPE).

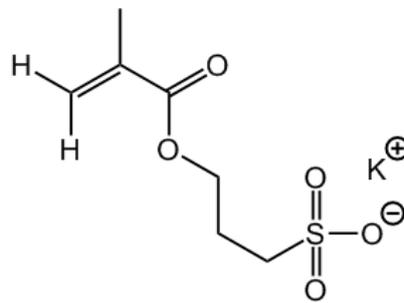


Abbildung II. 2: 3-Sulfopropylmethacrylat Kaliumsalz (SPM).

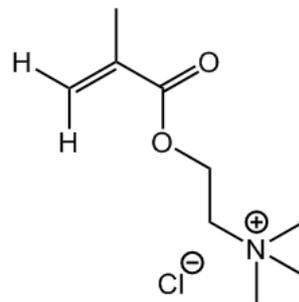


Abbildung II. 3: [2-(Methacroyloxy)ethyl]triethylammoniumchlorid (TMAEMA).

### II.2 Vernetzer

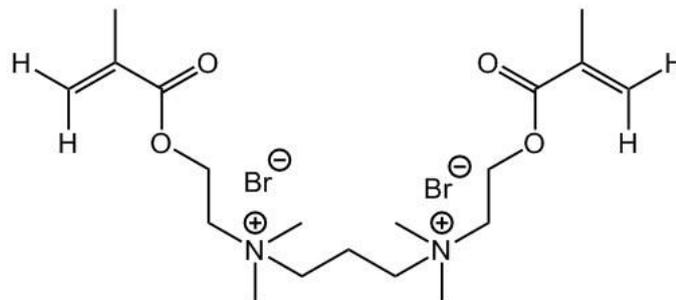
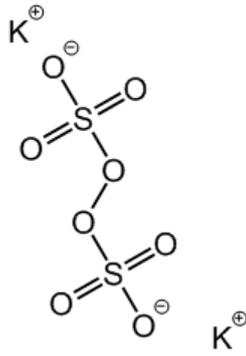
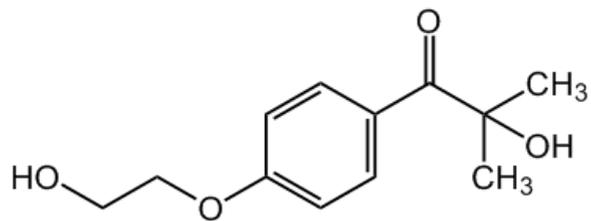


Abbildung II. 4: N,N,N',N'-Tetramethyl-N,N'-bis(2-ethylmethacrylat)-propyl-1,3 diammoniumdibromid (TMBEMPA/Br).

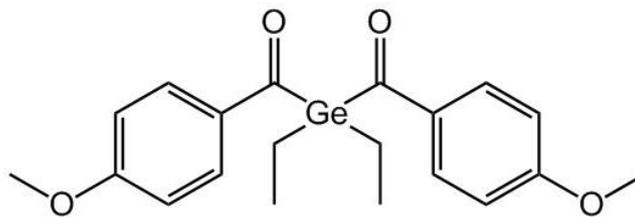
### II.3 Initiatoren



**Abbildung II. 5:** Kaliumperoxodisulfat (KPDS).

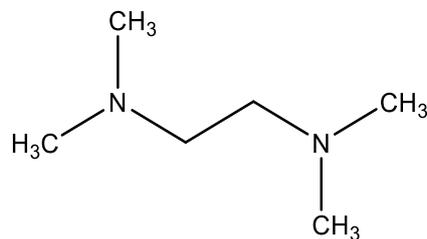


**Abbildung II. 6:** 2-Hydroxy-1-[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]-2-methyl-1-propanon (Irgacure D-2959).



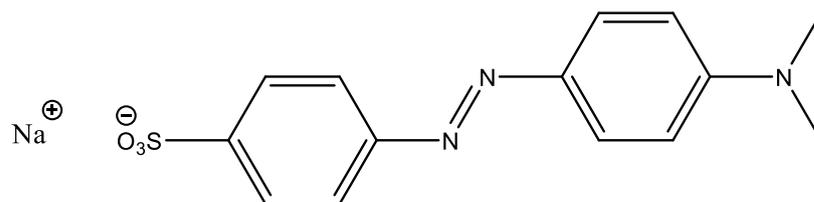
**Abbildung II. 7:** bis-(4-methoxybenzoyl)diethyl germane (Ivocerin®)

### II.4 Polymerisationskatalysator

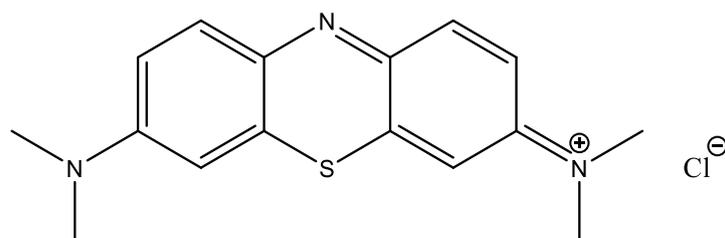


**Abbildung II. 8:** N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamin (TMEDA).

## II.5 Organische Farbstoffe



**Abbildung II. 9:** Methylorange (MO).



**Abbildung II. 10:** Methylenblau (MB).

# 1. Einleitung und Zielsetzung

“Gel: Non-fluid colloidal network or polymer network that is expanded throughout its whole volume by fluids.”

“Hydrogel: Gel in which the swelling agent is water.”

2007 IUPAC.<sup>1</sup>

Diese auf den ersten Blick doch recht unscheinbar erscheinenden Definitionen von der Internationale Union für reine und angewandte Chemie (IUPAC, engl. „*International Union of Pure and Applied Chemistry*“) beschreibt eine Klasse von Materialien, welche aus unserem Alltag nicht mehr wegzudenken ist. Ob als superabsorbierende Komponente in Windeln<sup>2</sup> als Polsterung und Abdeckung in verschiedenen Wundschnellverbänden z.B. Blasenpflastern<sup>3</sup>, als optische Sehhilfe in Form von Kontaktlinsen<sup>4</sup> oder als Gelatine zur formgebenden Einheit in Götterspeise<sup>5</sup>. Die Einsatzgebiete für Hydrogele sind mannigfaltig. Ferner beschäftigen sich eine Vielzahl von Publikationen (Bsp. SciFinder Topic Suche „Hydrogel“ im Jahr 2015-2020 Treffer ca. 56.000 Stand 22.09.2020) mit der Entwicklung von neuen Systemen und Anwendungsgebieten. Zu diesen gehören neben den bereits erwähnten Gebieten der Wundversorgung<sup>6-8</sup> und Superabsorber<sup>9-11</sup> auch Materialien in der Landwirtschaft<sup>12</sup>, zur Wasseraufbereitung<sup>13,14</sup>, Energiematerialien<sup>15</sup>, weiche Elektronik und Robotik<sup>16-20</sup>, Sensoren<sup>21-23</sup> bzw. Aktoren<sup>24-26</sup>, gezielte Arzneimitteltransport und Freisetzung (engl. „*drug delivery*“) <sup>27-30</sup>, Gewebetechnik (engl. „*tissue engineering*“) <sup>31-34</sup> und allgemein biomedizinische Anwendungen<sup>35-38</sup> und Biomaterialien<sup>39</sup>. Wie kann also eine einzelne Materialklasse ein so vielfältiges Anwendungsspektrum aufweisen?

Wie bereits das Eingangszitat besagt, handelt es sich generell bei Hydrogelen<sup>40-43</sup> um ein heterogenes Gemisch aus mindestens zwei Komponenten, welche bikohärent sind. Die erste Komponente stellt ein dreidimensionales Netzwerk, z.B. aus Polymeren, dar. Dieses Netzwerk enthält Maschen (Poren), welche mit der zweiten Komponente gefüllt werden. Ist die zweite Komponente eine Flüssigkeit spricht man von Lyogelen, wie das Hydrogel (Wasser) oder Alkogel (Alkohol). An dieser Stelle soll lediglich auf die Vielzahl von Synthesestrategien<sup>38,44,45</sup>, Art der Netzwerkverknüpfung<sup>45</sup> und Art der verwendeten Monomere<sup>45,46</sup> hingewiesen werden, wodurch diverse Eigenschaften eingestellt werden können (vgl. Kapitel 2.2). So sind sogar einige Eigenschaften, wie z.B. Quelleigenschaften, Permeabilität, mech. Stabilität etc., über einen äußeren Stimulus<sup>30,47-49</sup> (pH-Wert, Ionenstärke, Temperatur) reversibel wechselbar.

Gleichwohl stellt dies nur eine Vereinfachung dar. Wie bereits Dorothy Jordan Lloyd mit dem nachfolgenden Zitat durchscheinen lässt, ist die genaue Definition von Gelen und damit die Netzwerkcharakterisierung nicht trivial.

*“The colloidal condition, the “gel”, is one which it is easier to recognize than to define, ...”*<sup>50,51</sup>

*Dorothy Jordan Lloyd, 1926*

In der Literatur ist diesbezüglich eine Vielzahl von Methoden zur Netzwerkanalytik beschrieben (vgl. Kapitel 2.3.3)<sup>52</sup>. Diese unterteilen sich zum einen in qualitative bzw. bildgebende und quantitative Methoden. Zum anderen werden die Messungen der grundlegenden chemischen und physikalischen Eigenschaften berücksichtigt. Mengenmäßig überwiegend werden zur bildgebenden Analytik verschiedenste mikroskopische Methoden wie z.B. Rasterelektronenmikroskopie (REM)<sup>53</sup> verwendet. Ferner werden Quelleigenschaften<sup>54</sup> in diversen Medien bestimmt. Mechanische Eigenschaften<sup>55</sup> werden mittels unterschiedlichster Methoden der Rheologie oder dynamisch mechanischer Analyse (DMA) quantifiziert. Vor allem für Kompositmaterialien sind Analysen der thermischen Eigenschaften<sup>56</sup> mittels Thermogravimetrischer Analyse (TGA) und dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC) zu nennen. Auffällig ist dabei der Zustand des Netzwerks. Viele Methoden erfordern Messungen im Vakuum, weshalb zunächst das Lösungsmittel als zweite Komponente des bikohärenten Systems entfernt werden muss. Nachteilig ist dabei die mögliche Kollabierung des Netzwerks. So werden Netzwerke nach Entfernung der flüssigen zweiten Komponente als Xerogele bezeichnet, wenn das Netzwerk kollabiert, also an Volumen und Größe abnimmt.<sup>57</sup> Kann dies nicht beobachtet werden wird die zweite Komponente vollständig durch Luft ersetzt. Diese Systeme werden als Aerogele<sup>58</sup> bezeichnet. Dabei ist das Netzwerk nicht auf den polymeren Aufbau (z.B. Nanocellulose) beschränkt. Vielmehr sind eine Vielzahl an anorg. Systemen, bspw. Graphene, Silica, bekannt.

Aus der Kombination des hohen Wasseranteils in Hydrogelen<sup>59,60</sup>, variablen Porositäten<sup>61,62</sup> und mechanische Eigenschaften<sup>63</sup> und der Wahl des chemischen Systems ergeben sich die oben aufgeführten Möglichkeiten der Anwendung. Doch warum sind solche Systeme besonders für biomedizinische Anwendungen und im Bereich regenerativer Knochenersatz im weitesten Sinne geeignet? Dazu lohnt ein Blick in die Natur. Der Grundgedanke ist besonders in diesem Themengebiet durch das „Lernen von der Natur“ und dessen Nachahmung geprägt. So wurden Knochen von Chemiker M. Epple im Jahre 1989 wie folgt beschrieben:

*„Aus Sicht eines Chemikers ist Knochen  
ein Verbundwerkstoff aus Calciumphosphat und Kollagen“.*<sup>64</sup>

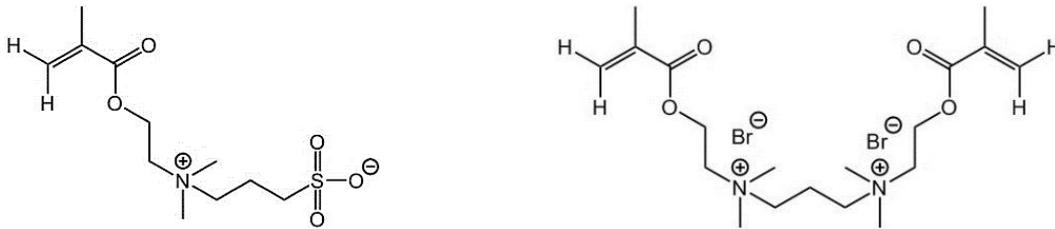
Dies stellt gleichwohl nur eine starke Vereinfachung dar. Sowohl die Zusammensetzung als auch die Bildungsmechanismen sind immer noch Gegenstand der aktuellen Forschung (vgl. Kapitel 2.1). Doch alleine dieses Wissen reicht nicht aus, um das Biomineral, aus dem Knochen aufgebaut sind, synthetisch herzustellen. Daher spezialisiert man sich in Bereichen, wie der Medizintechnik, mit der Entwicklung von solchen Hybridmaterialien. Diese bestehen

aus mindestens zwei Komponenten, welche sowohl anorganischen als auch organischen Ursprungs sind. Somit dient das Hydrogel als formgebende Einheit, in dem die anorg. Komponente inkorporiert ist. Es beschäftigt sich eine Vielzahl an Forschungsgruppen mit der Bildung von Biomineralen und damit der Klärung des Biomineralisationsprozesses (vgl. Kapitel 2.1). Utech *et al.* fassten in einem Review zu Hydrogel Kompositen mit biomedizinischen Anwendungen die gängigen Eigenschaften mit dessen Vor- und Nachteilen zusammen. So zeichnen sich nahezu alle Hydrogel basierend auf Naturpolymeren durch eine hohe Biokompatibilität<sup>65</sup> aus. Nachteilig sind beispielsweise Aspekte wie Abbaubarkeit und eine notwendige chemische Modifikation zur Netzwerkbildung.<sup>46</sup> Auch in dem Review von Munro *et al.* ist der Schwerpunkt auf Hydrogele in Forschungsbereich Biomineralisation gelegt.<sup>66</sup> Dominierend sind hier Hydrogele aus natürlichen Polymeren<sup>12</sup>, wie z.B. Cellulose und dessen Derivate<sup>67,68</sup>. Auf synthetischer Seite sind vorrangig ungeladene Systeme auf Basis von bspw. Polyethylenglycol (PEG) und Polyacrylsäure (PAA)<sup>46</sup> (vgl. Kapitel 2.1) aufgeführt. Als Vertreter für geladene Systeme sind Polyelektrolyte<sup>69,70</sup>, speziell zwitterionische Polymere<sup>71</sup>, zu nennen (vgl. Kapitel 2.2.4). Im Bereich der biomedizinischen Anwendung ist dabei die Stoffklasse der Betaine<sup>72</sup> unter anderem aufgrund der „antifouling“<sup>73–75</sup> Eigenschaften präsent. Hydrogele auf Basis dieser zwitterionischen Strukturen finden dann Anwendung unter anderem im Bereich Wundbehandlung<sup>76</sup>, implantierbaren Produkten<sup>77</sup> und allgemein im biomedizinischem Bereich<sup>78</sup>.

Ziel dieser Arbeit ist es nun vorrangig ein neues Hybridmaterial auf Basis von Polyelektrolyten und Calciumphosphat zu entwickeln. Als Grundlage dienen dabei einige Aspekte aus der Literatur. Hier werden Materialien beschrieben, welche ausschließlich mit kostenintensiven, langwierigen und synthetisch aufwendigen Prozessen<sup>79–81</sup> hergestellt werden. Die resultierenden Materialien sind dann zudem klein und schwerer händelbar. Daher soll in dieser Arbeit ein kostengünstiger Herstellungsprozess ohne viel synthetischen Aufwand gefunden werden, welcher reproduzierbar Hydrogele mit einem Durchmesser im Zentimeterbereich liefert. Dabei sollen vor allem die Form und Größe sehr flexibel einstellbar sein.

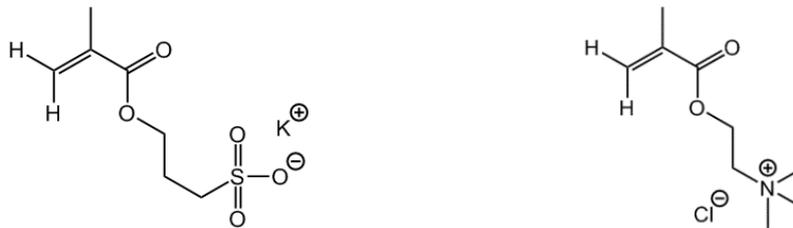
Als Grundlage für die Auswahl der Monomere wurden vorangegangene Arbeiten bezüglich der Biomineralisation in Lösung verwendet. Hier zeigte sich, dass sulfobetainbasierte Polymere eine Calciumphosphatmineralisation akzelerieren können.<sup>82</sup> Daher soll im ersten Schritt ein neues Hydrogele auf Basis von dem Sulfobetain N-(3-Sulfopropyl)-N-methacroyloxyethyl-N,N-dimethyl-ammonium-betain (SPE) mit dem positiv geladenen und wasserlöslichen Vernetzer N,N,N',N'-Tetramethyl-N,N'-bis(2-ethylmethacrylat)-propyl-1,3 diammoniumdibromid (TMBEMPA/Br) synthetisiert und möglichst vollständig charakterisiert werden. In diesem Fall wurde der Vernetzer bezüglich der positiven Ladungen verwendet. Diese werden in der Literatur als Additive zur Mineralisation von

Calciumphosphaten eher vernachlässigt. Es dominieren Arbeiten beispielsweise zum Einfluss von Carboxylat-Anion ( $-\text{COO}^-$ ) bzw. deren korrespondierende Säure.<sup>83</sup>



**Abbildung 1. 1:** Das Monomer *N*-(3-Sulfopropyl)-*N*-methacryloyloxyethyl-*N,N*-dimethyl-ammonium-betain (SPE) (links) und der chemische Vernetzer *N,N,N',N'*-Tetramethyl-*N,N'*-bis(2-ethylmethacrylat)-propyl-1,3-diammoniumdibromid (TMBEMPA/Br) (rechts).

Die anderen zwei Monomere Sulfopropylmethacrylat Kaliumsalz (SPM)<sup>82</sup> mit ausschließlich negativer Ladung und das [2-(Methacryloyloxy)ethyl] triethylammoniumchlorid (TMAEMA)<sup>84</sup> mit ausschließlich positiver Ladung sollen vergleichende Ergebnisse liefern.



**Abbildung 1. 2:** Das negativ geladene Monomer 3-Sulfopropylmethacrylat Kaliumsalz (SPM) (links) und das positiv geladene Monomer [2-(Methacryloyloxy)ethyl]triethylammoniumchlorid (TMAEMA) (rechts).

Diese Arbeit gliedert sich, anschließend an die Synthese, in vier grobe Unterkapitel auf. Kapitel 4.1 befasst sich mit der Netzwerkcharakterisierung im Gleichgewichtsquellzustand. Dabei soll zunächst die Netzwerkbildung (Gelierung) mittels zeitaufgelöster dynamischer Lichtstreuung (engl. „*time-resolved dynamic light scattering*“ TR-DLS) verfolgt werden. Das entstandene Hydrogel soll dann bezüglich Netzwerkbeschaffenheit, Struktur und dessen Eigenschaften quantifiziert und qualifiziert werden. Dazu sollen hauptsächlich nasschemische Verfahren verwendet und die Charakterisierung der Netzwerkinhomogenität im Vordergrund stehen. Methodisch gehören wesentlich Niederfeld-Kernresonanzspektroskopie, Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS), Rasterelektronenmikroskopie mit Tieftemperaturtechnik (Kryo-REM), dynamisch-mechanische Analyse (DMA), Rheologie, thermogravimetrische Analyse (TGA) und dynamische Differenzkalorimetrie (DSC) dazu.

Diese Hydrogele sollen dann für die Aufklärung der matrixgesteuerten Mineralisation von Calciumphosphat und -carbonat genutzt werden. Kapitel 4.2 befasst sich daher mit dem alternierende Eintauchverfahren (engl. „*alternate soaking method*“) und der Variation von Mineralisationsparametern, wie pH-Wert, Konzentration  $c$  und Temperatur  $T$ . Alternative Mineralisationsstrategien wie die doppelte Diffusion und die Mineralisation im elektrischen Feld sollen auf die grundlegende Eignung getestet werden. Das entstandene Hybridmaterial soll

sowohl qualitativ mittels Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD), abgeschwächte Totalreflexion–fouriertransformierte Infrarot Spektroskopie (ATR-FTIR), Raman-Spektroskopie, Rasterelektronenmikroskopie (REM) mit energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDXS) und optischer Mikroskopie (OM) als auch quantitativ mittels Gravimetrie und TGA analysiert werden.

Für die potentielle Verwendung in der Medizintechnik, z.B. als Implantatmaterial, ist die grundlegende Einschätzung der Wechselwirkung zwischen Hydrogel bzw. Hybridmaterial und verschiedener Zelltypen unerlässlich. Dazu sollen verschiedene Zelltypen, wie Einzeller, Bakterien und adulte Stammzellen verwendet werden. Die Wechselwirkung mit Peptidsequenzen von Phagen komplettiert das biologische Unterkapitel 4.3.

Wie bereits erwähnt sind Hydrogele mannigfaltig einsetzbar. Diese Arbeit soll daher in einem abschließenden Kapitel 4.4 weitere Projektperspektiven, auch außerhalb des biomedizinischen Anwendungsspektrums, aufzeigen. So soll z.B. eine serienmäßige bzw. maßgeschneiderte Produktion über die Stereolithographie per 3D Druck (SLA) oder dem „Inkjet“ Verfahren erreicht werden. Um dies ermöglichen zu können sollen weitere Synthesestrategien, wie die Photopolymerisation und die redoxinitiierte Polymerisation, ausgenutzt werden. Auch die Eignung als Filtermaterial oder Superabsorber sollen hier analysiert werden.

Im anschließenden Kapitel 5 sollen dann die erzielten Ergebnisse im Kontext der aktuellen Forschung analysiert und bewertet werden.

Zusammenfassend können, unter Berücksichtigung der Literatur, folgende Leitfragen für diese Dissertation formuliert werden:

1. Ist es möglich Hydrogele auf Basis von Sulfobetainen mit möglichst geringem synthetischem Aufwand herzustellen?
2. Wie kann möglichst umfangreich das entstandene Netzwerk im Gleichgewichtsquellzustand analysiert werden?
3. Ist es möglich das Hydrogel möglichst vollständig mit Calciumphosphat zu mineralisieren?
4. Ist ein rein chemisches Netzwerk trotzdem attraktiv für verschiedene biologische Systeme?
5. Welche weiteren Anwendungsgebiete ergeben sich über die Grundlagenforschung hinaus?

Diese werden abschließend in Kapitel 6 ausgewertet. Vervollständigt wird dieses Kapitel mit einer Zusammenfassung und der Vorstellung einer Projektidee auf Basis der Literatur und der entstandenen Ergebnisse.

## 2. Theoretische Grundlagen

Für die Erarbeitung der Mineralisation in polymerbasierten Templaten bedarf es einiger theoretischer Grundlagen, welche in dem folgenden Kapitel vorgestellt werden sollen. Dazu wird in zwei Teilkapiteln eine Einführung in die Themenbereiche der Biomineralisation und Polymerchemie gegeben. Im dritten Teilkapitel soll ein Überblick über die essentiellen Funktionsprinzipien und den Aufbau der verwendeten analytischen Methoden eingegangen werden. Dabei steht generell die Auswertung der Messdaten in Hinblick auf inhomogene Hydrogele bzw. Netzwerke im Mittelpunkt der Betrachtungen.

### 2.1 Biomineralisation<sup>1</sup>

Biomineralisation<sup>64,85–93</sup> beinhaltet nach IUPAC einen Mineralisationsprozess, welcher durch Zellen und biologische Prozesse hervorgerufen wird.<sup>94</sup> In diesem speziellen Fall werden im lebenden Organismus anorganische Minerale unter milden und sehr definierten Bedingungen gebildet. Die daraus entstehenden Biominerale weisen zumeist hierarchische und komplexe Strukturen auf. Mengenmäßig am bedeutendsten sind verschiedene Calciumphosphate (humaner Zahnschmelz und Knochen), Calciumcarbonate (Molluskschalen), Kieselsäuren (Schutzmechanismen für Pflanzen), Eisenoxide und –hydroxide<sup>95,96</sup> (Magnetsensoren, Zähne von Schnecken) sowie Erdalkalisulfate<sup>97</sup> (Skelette mariner Einzeller) als anorganische Komponente. Somit variiert diese je nach Verfügbarkeit und Verwendungszweck. Grundlegend bestimmt dieser Bestandteil die Stabilität. Zumeist handelt es sich hierbei um Hybridmaterialien, welche sich noch aus einer weiteren Komponente zusammensetzen. Die organische Komponente ist vorrangig für die Formgebung und Flexibilität zuständig. Dies wird durch Strukturproteine (z.B. Gelatine) oder auch Polysaccharide (z.B. Chitin) gewährleistet. Die Kombination der beiden Bestandteile ermöglicht die Ausbildung herausragender Eigenschaften wie hohe Bruchfestigkeit, Härte und Elastizität. Die Biomineralisation ist demnach eine Methode für die Lebewesen sich an die Umgebungsbedingungen perfekt anzupassen.

Aufgrund der Komplexität des Themengebietes können eine Vielzahl an Teilgebieten mit unterschiedlichen Strategien formuliert werden. Einige Forschungsgruppen befassen sich direkt mit den biologischen Systemen und der Aufklärung der Strukturbildung und den Mechanismen. Beispielhaft seien hier die Aufklärung der Knochenstruktur durch die Gruppe um Steve Weiner genannt. Raguin *et al.* beschrieben hier 2020 die Pharyngealialstruktur (Teil des Kiemenbogens) vom Schwarzen Trommler (*Pogonias cromis*)<sup>98</sup> und 2021 die Struktur von Schweineknöchel mittels Ionenfeinstrahl-REM<sup>99</sup>. Darüber hinaus befasst sich eine Vielzahl an

---

<sup>1</sup> Dieses Teilkapitel 2.1 zur Biomineralisation beruht vorrangig auf den Literaturquellen <sup>64,85–93</sup>.

Arbeiten mit Modellsystemen, welche sich auf individuelle Parameter des gesamten Systems konzentrieren. Hier sei der Veranschaulichung halber Arbeiten mit dem Fokus auf der Matrix von Lawson *et al.* zum Kollagen<sup>100</sup> und Yokogawa *et al.* zum Chitin<sup>101</sup> genannt. Eine weitere Möglichkeit beinhaltet die Anwendung und Übertragung des bisherigen Wissensstands auf neuartige Systeme. Hier werden vorrangig Polymer basierte Systeme verwendet. Häufigste Vertreter sind hierbei Polymethylmethacrylat (PMMA)<sup>102,103</sup> und verschiedene Polyester wie z.B. Polylactide (PLA)<sup>104–106</sup>, Polyglycolide (PGA)<sup>107,108</sup> oder  $\epsilon$ -Caprolactone (PCL)<sup>109,110</sup>.

Allerdings ist zum jetzigen Stand der Forschung eine Übertragung von der Natur in das Labor nicht möglich. Unter Laborbedingungen kann in der Regel nur eine stark vereinfachte Morphologie generiert werden. Lediglich in Ausnahmefällen können komplexere Strukturen beobachtet werden. Dies ist vor allem auf die zahlreichen Einflussparameter, z.B. Temperatur, pH-Werte und Additive, im biologischen System auf eine Mineralisation zurückzuführen. Folglich sind weitere Forschungen notwendig.

### **2.1.1 Calciumphosphat und dessen Biominerale**

In der vorliegenden Arbeit wird sich auf das Calciumphosphat als anorganische Komponente im Biomineral spezialisiert. Daher soll in diesem Kapitel eine kurze Zusammenfassung der wichtigsten Aspekte erfolgen.

In der Literatur ist häufig die Rede von „Calciumphosphat“ (CaP) als Bestandteil von Biomineralen. Dies stellt lediglich eine stark vereinfachte Formulierung dar. Calciumphosphat  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  ist nämlich ein weißer Feststoff mit einer Wasserlöslichkeit von 7,7 g/L (20 °C/ 6,9 - 7,3 hPa)<sup>111</sup> und damit nahezu unlöslich im wässrigen Medium. Diese Form ist in der Natur praktisch nicht existent. Vielmehr können verschiedene Modifikationen beschrieben werden, welche durch den Protolysegrad der Phosphorsäure, teilweise Substitution der Ionen und/oder durch Einbau von Kristallwasser erreicht werden. Aus diesen Kristallsystemen und damit der Kristallstruktur ergibt sich dann eine Vielzahl an Eigenschaften, wie z.B. Härte, Löslichkeit und elektrische bzw. thermische Leitfähigkeit.<sup>86</sup> In der nachfolgenden Tabelle 2. 1 sind einige wichtige Modifikationen zusammengefasst.

**Tabelle 2. 1:** Zusammenstellung ausgewählter Calciumphosphate in Anlehnung an <sup>64,83,86,112</sup>.

Verbindung	chemische Formel Kristallklasse und Raumgruppe	Bildung bei einem pH-Wert von	Molares Ca/P- Verhältnis
amorphes Calciumphosphat (ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n \text{H}_2\text{O}$	0-14	1,20 – 2,50
Dicalciumphosphat-Dihydrat; Brushit (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ monoklin, C2/c	4-5	1,00
Dicalciumphosphat-Anhydrat; Monetit (DCPA)	$\text{CaHPO}_4$ triklin, P1	4-5	1,00
Monocalciumphosphat-Monohydrat (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$		0,50
Monocalciumphosphat-Anhydrat (MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$		0,50
$\alpha$ -Tricalciumphosphat; Whitlockite ( $\alpha$ -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Basisch	1,50
$\beta$ -Tricalciumphosphat ( $\beta$ -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Basisch	1,50
Octacalciumphosphat (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ triklin, P1	~5-6	1,33
Hydroxylapatite (HAP)	$\text{Ca}_5(\text{OH})(\text{PO}_4)_3$ hexagonal, P63/m monoklin	Basisch	1,67
Tetracalciumphosphat (TTCP)	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$		2,00

Im biologischen System sind vor allem die Formen amorphes Calciumphosphat (ACP), Dicalciumphosphat-Dihydrat (DCPD), Octacalciumphosphat (OCP) und Hydroxylapatit (HAP) von Bedeutung, weshalb diese etwas näher beschrieben werden sollen. Aus der Tabelle 2. 1 ist zu entnehmen, dass der pH-Wert entscheidend für die gebildete Modifikation ist. In eher saurem Milieu wird das DCPD oder OCP gebildet, wohingegen bei eher basischem pH-Wert HAP entsteht. ACP kann auf der gesamten pH-Wertskala beobachtet werden. DCPD ist daher z.B. in pathologischen (ekopischen) Ablagerungen in Nieren oder auf Zähnen zu finden. Darunter wird die Bildung steinartigen Materialien an unerwünschten oder sogar schädlichen

Lokalisierungen im Körper zusammengefasst. Dieser unlösliche Harnstein bzw. Zahnstein wird aufgrund eines Ungleichgewichtes der Körperflüssigkeiten gebildet. HAP hingegen ist als anorganischer Bestandteil in Zähnen und Knochen zu nennen.

Der menschliche Zahn lässt sich in drei grundlegende Hartgewebe, dem Zahnschmelz (lat. „*Enamelum*“), dem Zahnbein (Dentin) und dem Zahnzement (lat. „*Cementum*“), welche das Zahnmark (Pulpa) umgeben, einteilen. Dieses Hartgewebe setzt sich aus identischen Komponenten zusammen. Die organische Matrix wird aus Kollagenfasern gebildet, HAP bildet die anorganische Komponente und der Rest ist Wasser. Lediglich in deren Anteilen unterschieden sie sich. Je weiter im Zahninneren sich das Hartgewebe befindet, desto geringer ist der Anteil an HAP. Der Anteil der org. Matrix und des Wassers hingegen erhöht sich. Daher kann die Zusammensetzung grob wie folgt formuliert werden:

Enamel (95 Gew.% HAP, 1 Gew.% org. Matrix, 4 Gew.% H<sub>2</sub>O);

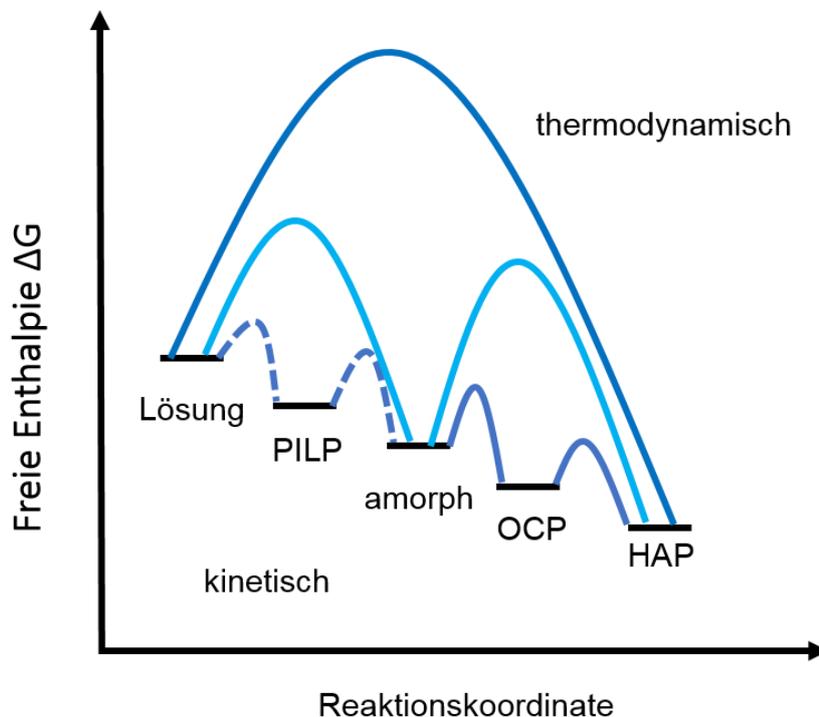
Dentin (70 Gew.% HAP, 20 Gew.% org. Matrix, 10 Gew.% H<sub>2</sub>O);

Zement (61 Gew.% HAP, 27 Gew.% org. Matrix, 12 Gew.% H<sub>2</sub>O).

Knochen ähneln im Aufbau dem des Dentins. Hier ist aber keine allgemeingültige Aussage zu treffen, da je nach Lebewesen und Lokalisation im Körper Unterschiede auftreten. Jedoch können auch in diesem Fall das Knochengewebe eingeteilt werden. Dabei besteht die äußere Knochenschicht („*Substantia corticalis*“) aus relativ dichtem Material, welches die schwammartige innere Schicht („*Substantia spongiosa*“) umschließt. Zur Veranschaulichung existieren viele Modelle zum Knochenaufbau. Vereinfacht beschrieb der Chemiker M. Epple 1989 Knochen als „Verbundwerkstoff aus Calciumphosphat und Kollagen“. T. A. Taton beschrieb 2001 eine Kollagentripelhelix, in die HAP-Kristalle eingebettet sind. Berücksichtigt hier jedoch auch die biologischen Aspekte in Form von Osteoblasten.<sup>113</sup> Reznikov *et al.* veröffentlichten 2014<sup>114</sup> und 2015<sup>115</sup> mehrere Studien zum Aufbau des Menschenknochens. Darin wird z.B. der lamellare Knochen als komplexes System aus orientierten und nicht orientierten Kollagenfibrillen beschrieben. Anhand dieser Beispiele soll lediglich illustriert werden, dass der genaue Aufbau immer noch Gegenstand der Forschung ist.

Die Calciumphosphatmodifikationen sind ebenfalls Schwerpunkte im Bereich der Mineralisationsforschung. Dazu gehören die z.T. substanzunabhängigen Kristallisationsprozesse (näheres in Kapitel 2.1.3), die Morphologie der Modifikation und die kinetischen und thermodynamischen Zusammenhänge zwischen den Substanzen. Morphologisch gesehen können bevorzugte Erscheinungsformen definiert werden. So tritt das ACP häufig als sphärische Partikel auf.<sup>116</sup> Demgegenüber stehen DCPD in Form von Flocken oder Plättchen<sup>117</sup> und verschiedene Apatite als Nadeln<sup>118</sup> oder Sphären<sup>119</sup>. OCP hingegen wird mit bandähnlichen Strukturen beschrieben.<sup>120</sup> Darüber hinaus sind auch eine Vielzahl weiterer Morphologien und Mischformen bekannt.<sup>83,121</sup>

Diese einzelnen Modifikationen stehen trotz ihrer beschriebenen Unterschiede nicht isoliert da. Vielmehr können ACP und OCP als Vorläufer des HAP angesehen werden. In Abbildung 2.1. 1 ist dieser Aspekt visualisiert. Darin wird die Kristallisation aus der Lösung über den thermodynamischen als auch kinetischen Weg beschrieben. Über den thermodynamischen Weg wird aus der Lösung durch Zuführen freier Reaktionsenthalpie  $\Delta G$  direkt HAP gebildet. Über den kinetischen Weg erfolgt eine stufenweise Umwandlung über ACP und OCP zu HAP. Anzumerken sind hier zwei Aspekte. Zum einen müssen nicht alle Modifikationen einzeln durchlaufen werden. Je nach Reaktionsbedingungen kann es zu einem Wegfall einzelner Zwischenstufen kommen. Zum anderen kann es in Gegenwart von Polymeren als Additive zur Bildung von „polymer-induced liquid-precursor“ (PILP) kommen. Näheres dazu ist im Kapitel 2.1.3 aufgeführt.

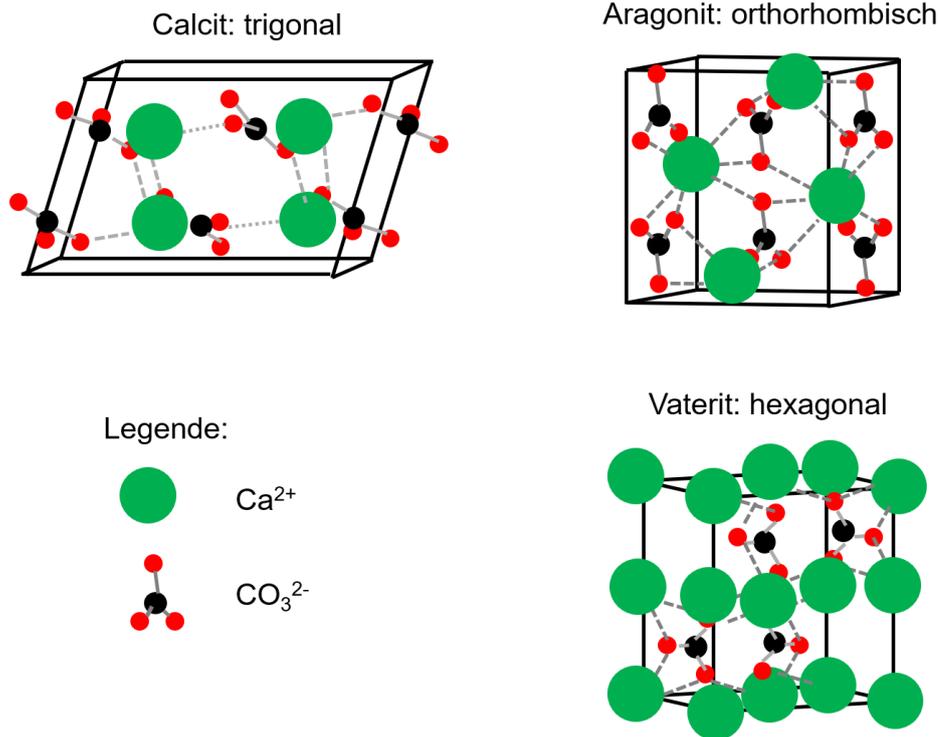


**Abbildung 2.1. 1:** Schematische Darstellung der Entstehung von HAP über den thermodynamischen (dunkles Blau) und kinetischen (helles Blau) Kristallisationsweg in Anlehnung an Xu et al.<sup>122</sup> und Cölfen et. al.<sup>123</sup>.

## 2.1.2 Calciumcarbonat und dessen Kristallsysteme<sup>2</sup>

Im Gegensatz zum Calciumphosphat ist das Calciumcarbonat  $\text{CaCO}_3$  vorrangig in marinen Lebewesen und in Sedimentgesteinen von großer Bedeutung. Im Fall des Calciumcarbonats werden drei Polymorphe und zwei Pseudo-Polymorphe beschrieben, welche sich nicht in ihrer Zusammensetzung, sondern in ihrem Kristallsystem unterscheiden. Schematisch ist dies in der nachfolgenden Abbildung gezeigt.

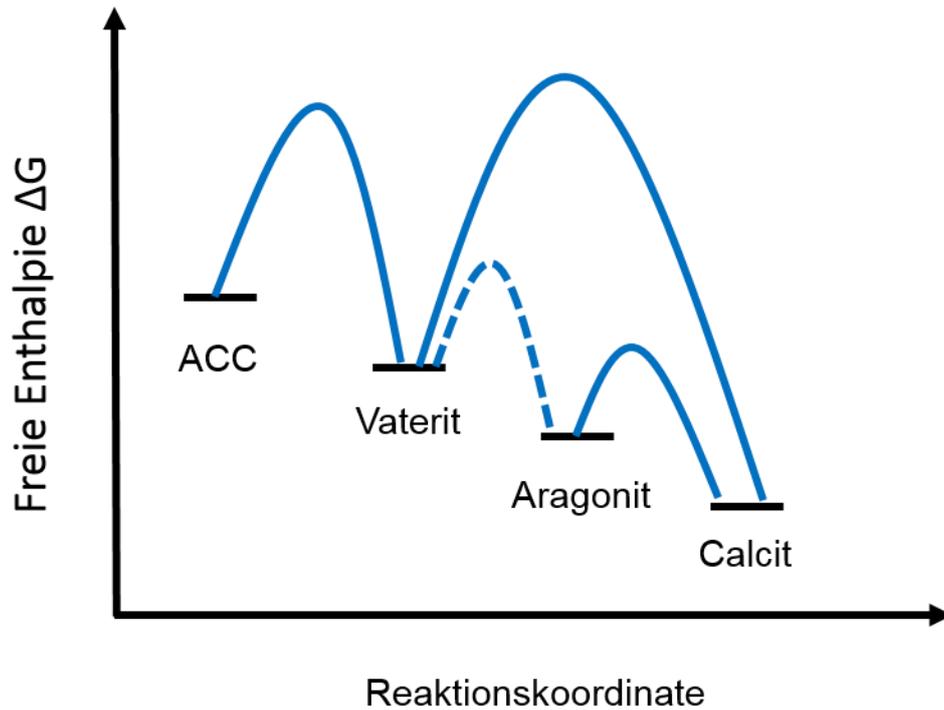
<sup>2</sup> Dieses Teilkapitel zu Calciumcarbonaten beruht vorrangig auf den Literaturquellen<sup>126,415</sup>.



**Abbildung 2.1. 2:** Schematische Darstellung der Kristallsysteme Calcit, Aragonit und Vaterit in Anlehnung an Maleki et al.<sup>111</sup>

Daraus wird ersichtlich, dass das Calcit in einem trigonalen Kristallsystem aufgebaut ist. Dies liegt als Schichtsystem dreidimensional vor. Das Carbonation liegt dabei in einer Ebene vor. Jedes Sauerstoffion (rot) ist dann mit einem Calciumion (grün) aus zwei Schichten verbunden. Die Calciumionen liegen als eckenverknüpftes Oktaeder vor. So ergibt sich die trigonale Anordnung mit der Raumgruppe  $R\bar{3}c$ . Aragonit hingegen liegt orthorhombisch in der Raumgruppe  $Pmcn$  vor. Das hexagonale Kristallsystem des Vaterits setzt sich aus Calciumionen zusammen, welche von acht Ionen des Carbonats umgeben sind. Das Carbonat ist hexagonal geordnet und die Raumgruppe wird als  $P6_3/mmc$  bezeichnet.

Neben diesen Polymorphen beinhalten Monohydrocalcit und Ikaite Kristallwasser, weshalb diese als Pseudo-Polymorphe bezeichnet werden. Außerdem wurde von Zou et al. eine weitere Phase, das Hemihydrat  $\text{CaCO}_3 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$  mit monoklinischer Struktur, diskutiert.<sup>124</sup> Trotz einiger Unterschiede, im Vergleich zum Calciumphosphat und dessen Modifikationen, können hier auch thermodynamische und kinetische Zusammenhänge der einzelnen Polymorphen aufgeführt werden (Abbildung 2.1. 3).



**Abbildung 2.1. 3:** Schematische Darstellung der Kristallisationswege des Calciumcarbonates in Wasser in Anlehnung an Myszka et al.<sup>125</sup>

Hier erfolgt eine stufenweise Bildung von thermodynamisch stabilerem Calcit über amorphem Calciumcarbonat (ACC) zu Vaterit und Aragonit. Diese unterscheiden sich nicht nur in ihrer Kristallstruktur, sondern auch in ihren Eigenschaften und Vorkommen. Beispielsweise ist Calcit leichter löslich als Aragonit. Auch die Morphologie unterscheidet sich. So ist Calcit eher kubisch, Aragonit stäbchenförmig und Vaterit sphärisch bzw. blumenförmig.<sup>126</sup> Eine Vorhersage anhand von Komponenten ist bisher aber noch nicht möglich.<sup>126</sup> In Tabelle 2. 2 sind exemplarische Vorkommen aufgelistet.

**Tabelle 2. 2:** Modifikationen des Calciumcarbonats in Anlehnung an <sup>86,90</sup>.

Verbindung	chemische Formel  (Kristallklasse)	Beispiele für das Vorkommen
Calcit	CaCO <sub>3</sub> (trigonal)	Schalen von Mollusken, Kalkalgen, Stachel von Seeigel Marmor, Kreide, Kalkstein
Aragonit	CaCO <sub>3</sub> (orthorhombisch)	Schalen von Mollusken, Korallen, Perlmutter, Marmor, Kalkstein
Vaterit	CaCO <sub>3</sub> (hexagonal)	sehr selten in Schalen von Mollusken, Gehörsteinchen, seltene Mineralbildung
amorphes Calciumcarbonat (ACC)	CaCO <sub>3</sub> · n H <sub>2</sub> O (röntgenamorph)	Prekursor für kristalline Modifikationen
Monohydrocalcit	CaCO <sub>3</sub> · H <sub>2</sub> O (trigonal)	selten in pathologische Verkalkungen selten in Sedimentgestein
Ikait	CaCO <sub>3</sub> · 6 H <sub>2</sub> O (monoklin)	sehr seltene Mineralbildung

Aus dieser Tabelle wird ersichtlich, dass Calcit in verschiedenen Gesteinsformen wie Kreide, Kalkstein und Marmor vorkommt. Dabei handelt es sich um natürliche Modifikationen, welche durch zusätzliche Minerale als Bestandteile zustande kommen. So setzt sich Kreide aus Calciumcarbonat, Schluff und Tonmineralen zusammen. Kalkstein enthält zusätzlich Dolomit, Quarz und Gips. Marmor kann durch Umwandlung bei hoher Temperatur und Druck aus carbonathaltigen Gesteinen wie Kalk und Dolomit entstehen. Diese Modifikationen sind somit vergleichbar mit den Calciumphosphatmodifikationen.

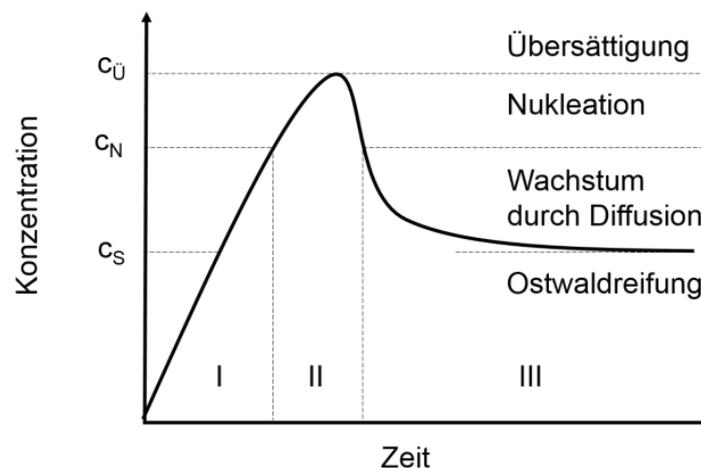
Aragonit ist z.B. in Perlmutter enthalten. Dies zählt zu den am meisten untersuchten Biomineralen und setzt sich vereinfacht gesagt aus Aragonitplättchen in einer Chitinmatrix zusammen. Nassif *et al.* beschrieben Aragonitplättchen, welche von einer nicht orientierten Schicht ACCs überzogen ist. Diese wechselwirkt nicht mit Proteinen.<sup>127</sup>

Vaterit hingegen ist nur begrenzt vertreten. In der Regel tritt Vaterit in Verbindung mit den zuvor genannten Modifikationen auf. Grund hierfür ist, wie zuvor erläutert, die Metastabilität.

### 2.1.3 Keimbildung und Wachstum bei einer Kristallisation

Bei der Mineralisation im lebenden Organismus handelt es sich rein chemisch gesehen um den Vorgang der Kristallisation<sup>3</sup>. Dieser ist durch eine Vielzahl biologischer Regelkreise gesteuert. Daher soll in diesem letzten Unterkapitel<sup>126,128</sup> zur Biomineralisation auf die wesentlichen Aspekte der Kristallisation und deren biologischen Aspekte eingegangen werden.

Grundsätzlich werden Prozesse, bei denen kristalline Feststoffe gebildet werden, als Kristallisation bezeichnet. Zunächst amorphe Feststoffe werden infolge einer Fällungsreaktion gebildet. Gemeinsam haben beide Prozesse laut klassischer Kristallisationstheorie den Ablauf in zwei Schritten, die Nukleation oder auch Keimbildung und das Wachstum. Beschrieben wurde vorrangig die homogene Nukleation, die spontan in Lösung stattfindet, von Viktor K. LaMer *et al.* in einem Modell (Abbildung 2.1. 4).<sup>129,130</sup> Der Vollständigkeit halber sei hier noch auf die heterogene Kristallbildung an Oberflächen, z.B. Impfkristallen oder Verunreinigungen hingewiesen.



**Abbildung 2.1. 4:** Schematische Darstellung des LaMer Diagramms in Anlehnung an LaMer *et al.*<sup>129,130</sup> Bereich I – Anstieg der Konzentration der gelösten Komponenten; Bereich II – Nukleation; Bereich III – Beim Keimwachstum ist die Geschwindigkeit der Bildung und des Abbaus gleich.  $c_S$  – Konzentration der Sättigung;  $c_N$  – Konzentration der Nukleation;  $c_Ü$  – Konzentration der Übersättigung.

In Lösung liegen die Ionen in gelöster Form vor. Ab der Nukleationskonzentration  $c_N$  kommt es zur spontanen Keimbildung. Bis zur Übersättigungskonzentration  $c_Ü$  steigt die Konzentration der Ionen weiter an. Ist  $c_Ü$  erreicht, sinkt die Konzentration der gelösten Ionen infolge einer schnellen Keimbildung und Kristallisation ab. Die Bildung der Keime ist solange zu beobachten, wie  $c_N$  nicht unterschritten ist. Anschließend sinkt die Ionenkonzentration bedingt durch Kristallwachstum immer weiter ab, bis der Gleichgewichtszustand bei einer

<sup>3</sup>Anmerkung: Die Kristallisation stellt keinen Schwerpunkt dieser Arbeit da, weshalb an dieser Stelle ausschließlich eine kurze Zusammenfassung der einzelnen Mechanismen und Modelle erfolgen soll.

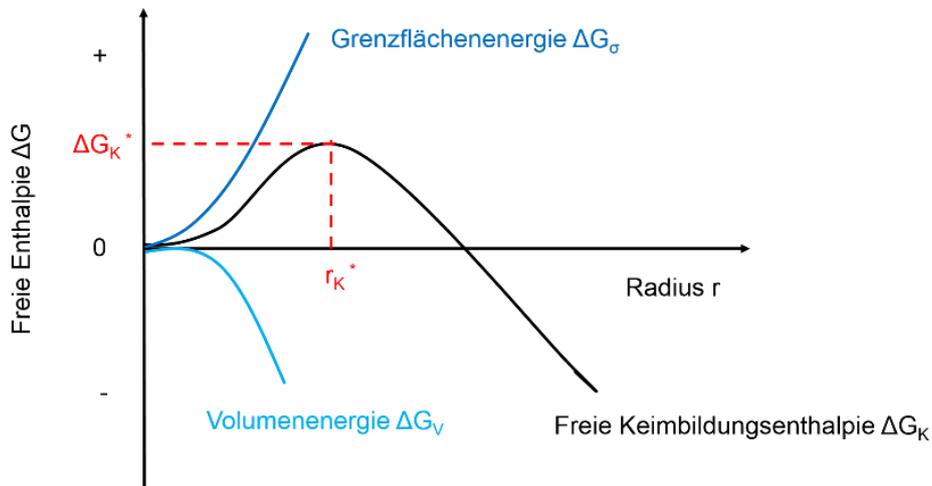
Sättigungskonzentration  $c_s$  erreicht wurde. Zusätzlich zum Kristallwachstum sind einige zusätzliche Prozesse bekannt. In der Abbildung 2.1. 4 ist hier beispielsweise die Ostwaldreifung genannt. Dies besagt, dass sich kleinere Partikel aufgrund ihrer besseren Löslichkeit auflösen, um größere Partikel bilden zu können. Ergänzt wird dies durch die Ostwaldregel. Zunächst entsteht immer die thermodynamisch instabile Kristallform, welche durch Phasenumwandlung etc. in die stabilere Form überführt werden kann. Dies ist aufgrund der höheren Löslichkeit der instabileren Phase möglich. Anhand des Calciumcarbonats ist dies in Kapitel 2.1.2 bereits erläutert worden. Weitere Prozesse sind z.B. Koagulation und Agglomeration.

Betrachtet man die klassische Kristallisationstheorie unter thermodynamischen und kinetischen Aspekten, muss die spontane Bildung der Keime näher beschrieben werden. Denn aufgrund einer kinetischen Hemmung im Ostwald-Miers-Bereich fallen die Keime zunächst nicht aus. Erst nach Aufwendung einer Aktivierungsenergie, in diesem Fall die freie Keimbildungsenthalpie  $\Delta G_K$ , kann dies beobachtet werden. Diese setzt sich aus den Anteilen der Enthalpie der Phasenumwandlung  $\Delta G_V$ , der Grenzflächenenergie  $\Delta G_\sigma$  und der elastischen Kräfte  $\Delta G_E$  zusammen (Gl. 1).

$$\Delta G_K = \Delta G_V + \Delta G_\sigma + \Delta G_E \quad (1)$$

mit:  $\Delta G_K$  - Änderung der freien Enthalpie bei der Keimbildung;  $\Delta G_V$  - Änderung der freien Enthalpie der Phasenumwandlung (freiwerdende Gitterenergie);  $\Delta G_\sigma$  - Änderung der freien Enthalpie durch die Grenzflächenenergie ( $\Delta G_\sigma = \sigma \cdot A$ );  $\Delta G_E$  - Änderung der freien Enthalpie durch elastische Kräfte.

$\Delta G_V$  drückt sich in einem negativen Beitrag aus, da infolge der Keimbildung Gitterenergie frei wird. Dies wird auch als Volumenenergie bezeichnet. Demgegenüber steht  $\Delta G_\sigma$ , welcher einen positiven Beitrag liefert. Erklärt werden kann dies durch die Bildung einer neuen Grenzfläche, welche sich aus der Grenzflächenspannung  $\sigma$  und der Keimoberfläche  $A$  zusammensetzt. Dies liefert die Grenzflächenenergie. In flüssigen bzw. gasförmigen Systemen ist der Beitrag von  $\Delta G_E$  zu vernachlässigen. Die schematische Darstellung der Beiträge ist in der nachfolgenden Abbildung gezeigt.



**Abbildung 2.1. 5:** Schematische Darstellung der Keimbildungsenergie in Abhängigkeit vom Radius in einem Kristallisationsprozess in Anlehnung an S. Mann.<sup>93</sup>

Daraus ist zu entnehmen, dass bei einem kleinen Radius der Oberflächenterm überwiegt und damit die Keimbildung thermodynamisch ungünstig ist. In der Folge löst sich der Keim auf. Erst ab einem kritischen Keimradius  $r_K^*$  kann der Keim wachsen, da das Verhältnis Oberfläche zu Volumen kleiner wird.  $r_K^*$  kann über die Gibbs-Kelvin-Gleichung berechnet werden (Gl. 2).

$$r_K^* = \frac{2\sigma V}{kT \cdot \ln(1+\gamma)} \quad (2)$$

mit:  $r_K^*$  - kritische Keimradius;  $\sigma$  – freie Grenzflächenenergie;  $V$  – Molvolumen der neu entstandenen Phase;  $k$  – Boltzmann-Konstante;  $T$  – Temperatur [K];  $\gamma$  – relative Übersättigung.

Im Zuge dessen ist ein Rückgriff auf den Ostwald-Miers-Bereich möglich. Die maximale Freie Enthalpie der Keimbildung  $\Delta G_K^*$  stellt dabei die erwähnte Aktivierungsenergie da, welche zunächst aufgebracht werden muss, bis es zur Keimbildung kommt. Diese kann gemäß folgender Gleichung 3 berechnet werden.

$$\Delta G_K^* = 4\pi\gamma r_K^{*2} = \frac{16\pi\gamma^3}{3|\Delta G_V|} \quad (3)$$

mit:  $\Delta G_K^*$  - maximale Freie Enthalpie der Keimbildung  $\triangleq$  Energiebarriere der Keimbildung;  $\gamma$  – Grenzflächenspannung;  $r_K^*$  - kritischen Keimradius;  $\Delta G_V$  – Änderung der Volumenenergie.

Während des anschließenden Kristallwachstums werden dann Modifikationen oder polymorphe Phasen reguliert. Auch dies ist durch kinetische Aspekte beeinflusst. In der Folge kann dann die unterschiedliche Geometrie der Kristalle gebildet werden. Dabei sind die Mineralisationsbedingungen (pH, T und c) als auch die Kristalloberfläche von Bedeutung. Beispielsweise sind ausschließlich atomar raue Oberflächen kinetisch begünstigt. An der

sogenannten Halbkristalllage lagern sich durch verschiedenste Transportprozesse die Bausteine zur Kristallbildung an. Umwandlungsprozesse zur Orientierung im Kristall und Desolvatationsprozesse schließen das Kristallwachstum ab.

Neben dieser klassischen ist auch die nicht-klassische Kristallbildungstheorie von Bedeutung.<sup>128</sup> Diese berücksichtigt Wechselwirkungen mit weiteren gelösten Additiven während des Kristallwachstums. Je nach verwendetem Additiv werden dabei adaptierte Kristalltheorien beschrieben. Beispielsweise entwickelten Cölfen *et al.* ein Modell ausgehend von der klassischen Kristallisationstheorie.<sup>131</sup> Diese zunächst klassische Beschreibung sieht die Bildung von Kristallclustern vor. Das Kristallwachstum findet gemäß den beschriebenen thermodynamischen Grundlagen statt und endet in einem Einkristall. Dieser kann jedoch auch über strukturdirigierende Kristallfusionen aus iso-orientierten Kristallen oder Mesokristallen erfolgen. Iso-orientierte Kristalle entstehen dabei in einem langsamen thermodynamisch kontrollierten System aus Nanopartikeln. Wenn eine Ausrichtung entlang einer gemeinsamen kristallographischen Achse gegeben ist, kann dies zur Bildung eines Einkristalls führen. Mesokristalle hingegen können vorrangig durch temporäre Stabilisierung der Nanopartikel mittels organischer Liganden (häufig Polymere) erfolgen. Diese können die Ausrichtung dirigieren. Gower *et al.* beschreibt zudem die Möglichkeit eines flüssigen Vorläufers durch Polymere, sogenannte PILPs (engl. „*polymer-induced liquid precursor*“).<sup>132–135</sup> Der Vollständigkeit halber sei auch auf die Kristallbildung mit amorphen Vorläufern hingewiesen.

Besonders bei der Bildung eines Biominerals kann dies nicht als isolierter chemisch-physikalischer Prozess verstanden werden. Vielmehr dienen verschiedene Ionenpumpen oder auch Vesikel der Kontrolle der Kristallisation in einem Kompartiment. Ein Hybridmaterial aus anorg. und org. Komponente kann durch matrixgesteuerte Prozesse, in Form von Funktionalitäten, Oberflächeneffekten und adsorbierten Biomolekülen, schrittweise bis zum fertigen Biomineral gebildet werden. Lowenstam und Weiner beschrieben dies als „biologisch kontrollierte“ Mineralisation.<sup>86</sup>

## 2.2 Polymerisation<sup>4</sup>

Für diese Dissertation sind Polymere und verschiedene Polymerisationen von Bedeutung. Daher soll an dieser Stelle ein Einblick in dieses Themengebiet gewährt werden.<sup>136–139</sup> Bei Polymeren handelt es sich laut IUPAC („*International Union of Pure and Applied Chemistry*“) um: „*Ein Molekül hoher relativer Masse, dessen Struktur tatsächlich oder konzeptionell durch die Wiederholung von Molekülen niedriger relativer Masse aufgebaut wird*“.<sup>140</sup> Auch anhand der Namensgebung lassen sich einige Ableitungen treffen. So setzt sich das Wort „Polymer“ aus dem griechischen Wort für „viel“ („*poly*“) und „Teil“ („*méros*“) zusammen. Die kleinen Untereinheiten, sogenannte Monomere wiederum setzen sich aus „einzel“ („*monos*“) und „Teil“ („*méros*“) zusammen.<sup>141</sup> Die erwähnte „Wiederholung“ eines Monomers hat die Bildung eines Homopolymers zur Folge, wohingegen die Verwendung verschiedener Monomere zu Copolymeren führt. Hierbei kann anhand der Monomersequenz die Architektur in alternierende, statistische, Block- oder Propfcopolymere unterschieden werden. Beeinflusst werden kann diese Struktur nicht nur über die Auswahl der Monomere, sondern auch über die Synthese mittels Polymerisation. Dabei wird nach dem kinetischen Verlauf in Stufenwachstum- und den Kettenwachstumsreaktionen eingeteilt. Grundlegender Unterschied ist dabei der Anteil an Makromolekülen in Abhängigkeit vom Umsatz.

Bei Stufenwachstumsreaktionen können Makromoleküle nur bei hohen Umsätzen beobachtet werden, indessen können bei Kettenwachstumsreaktionen diese auch schon bei geringem Umsatz beobachtet werden. Erklärt werden kann dies anhand der mechanistischen Verläufe. Bei der Stufenwachstumsreaktion, der die Polyaddition und Polykondensation zugeordnet werden, ist zunächst die Reaktion mindestens zweier funktioneller Gruppen der Monomere zu einem Dimer erforderlich. Über Oligomere werden dann stufenweise Polymere gebildet. Bei der Polyaddition können so durch unabhängige Additionsreaktionen bei einer stöchiometrischen Umsetzung ohne Nebenprodukt Polymere gebildet werden. Als Beispiel seien hier Polyurethane genannt, welche durch Reaktion von Diolen und Diisocyanaten schaumartige Polyaddukte bilden können. Verwendet werden diese dann in Matratzen oder Isolierschaum. Eine Polykondensation hingegen hat die Bildung eines niedermolekularen Nebenproduktes, zumeist Wasser oder Salzsäure, zur Folge. Polyester, wie das Polyethylenterephthalat (PET) aus denen Flaschen, und Polyamide, wie Nylon für Strumpfhosen, sind hier als Beispiele für Polykondensate zu nennen.

Im Vergleich dazu werden Polymere über eine Kettenwachstumsreaktion durch Aktivierung einer ungesättigten Doppelbindung im Monomer gebildet. Durch anschließende Additionsreaktionen an das aktive Kettenende inklusive kontinuierlichem Wachstum der Kette kann dann das Polymer gebildet werden. Hierbei ist die Unterteilung entsprechend der aktiven

---

<sup>4</sup> Dieses Teilkapitel zur Polymerisation beruht vorrangig auf den Literaturquellen <sup>136–139</sup>.

Spezies möglich. So kann über eine ionische Polymerisation mittels Kationen (z.B. Protonen) oder Anionen (z.B. Lithiumorganyle) eine Polymerisation initiiert werden. Aus dem Alltag sind für diesen kationischen Reaktionsmechanismus Polyisobutylen als Kautschukersatz, sowie Polyamid 6 (Perlon) über einen anionischen Mechanismus bekannt. Nachteilig wirken sich hier Feuchtigkeit und Nucleophile bzw. Elektrophile aus, welche zur Bildung von Nebenprodukten führt. Klarer Vorteil dieser Methode ist die mannigfaltige Architektur der gebildeten Polymere und die relative Resistenz gegenüber Sauerstoff (Ausnahme: Triplettzustand).

Der Vollständigkeit halber sei an dieser Stelle noch die Initiierung durch Übergangsmetallverbindungen genannt. Diese auch als koordinative Polymerisation bezeichnete Synthese beruht auf der Komplexbildung mit dem Initiator, wodurch eine Labelisierung der Monomerdoppelbindung erreicht wird. Auch diese Polymerisation führt zu Polymeren aus dem Alltag. So werden Trinkwasserrohre aus schwach verzweigtem Polyethylen (HDPE engl. „*high density polyethylene*“) mittels Ziegler-Natta-Katalysator synthetisiert. Nachteil dieser Methode ist vorrangig in der Komplexität des Mechanismus und damit gesteigertem Aufwand und Kosten zu suchen. Dafür können die Taktizitäten, die Anordnung der Seitenketten, reguliert werden.

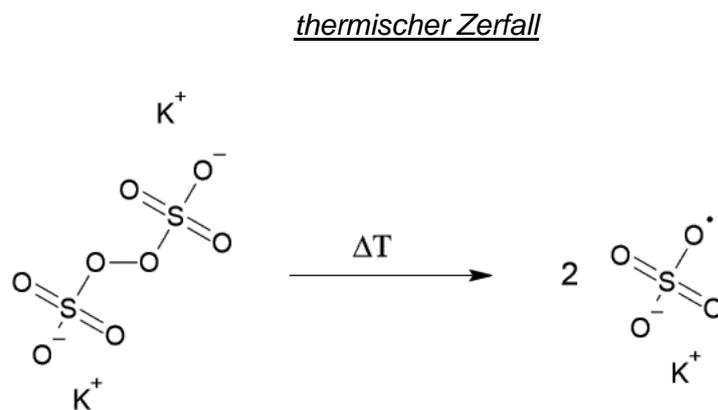
Als letzten Polymerisationstypen ist die radikalische Polymerisation zu nennen. In den nachfolgenden Teilkapitel soll vorrangig diese Polymerisation vorgestellt werden. Dazu gehören die freie radikalische Polymerisation (FRP), radikalische Photopolymerisation und die Redoxpolymerisation.

### 2.2.1 Freie radikalische Polymerisation (FRP)

Die Synthese von Polymeren über eine freie radikalische Polymerisation (FRP) unterteilt sich in mehrere Einzelschritte, welche nachfolgend zusammengefasst werden. Dabei wird nicht nur auf den generellen Mechanismus eingegangen, sondern auch die kinetische Beschreibung<sup>142</sup>, anfänglich beschrieben durch P. J. Flory, skizziert.

#### Initiierung

Den ersten Reaktionsschritt stellt die Initiierung dar. Vorrangig wird im betrachteten Fall zur chemischen Initiierung der Radikalstarter Kaliumperoxodisulfat (KPDS) verwendet. Unter Einwirkung von Temperatur oder UV-Licht zerfällt das Peroxid zu zwei Sulfatradikalen. Außerdem neigt dieser kristalline Feststoff zur Hydrolyse.



**Abbildung 2.2. 1:** Entstehung der Startradikale aus dem Initiator KPDS mittels thermischer Energie.

Außerdem ist die Initiierung ausschließlich über elektromagnetische Strahlung möglich. Auf diesen speziellen Mechanismus der Photopolymerisation wird im nächsten Teilkapitel 2.2.2 eingegangen. Ferner kann eine radikalische Polymerisation auch über Redoxreaktionen gestartet werden. Auch dies wird in einem separaten Teilkapitel 2.2.3 ausführlich behandelt. Im Allgemeinen kann diese Reaktion über folgendes Reaktionsschema beschrieben werden.



mit: I – Initiator und R – Radikal;  $k_d$  – Geschwindigkeitskonstante des Zerfalls; f – Effizienz des Initiators.

### Kettenstart und Kettenwachstumsreaktion

Die gebildeten Sulfatradikale übertragen anschließend die Radikalfunktion auf das Monomer, welches in der Regel eine Mehrfachbindung trägt. Anschließend erfolgt eine kontinuierliche Reaktion mit weiteren Monomeren nach identischem Mechanismus, wodurch eine wachsende Polymerkette entsteht. Diese Reaktionsschritte werden als Kettenstart und Kettenwachstum bezeichnet.



mit: R – Radikal und M – Monomer; P – wachsende Polymerkette;  $k_p$  – Geschwindigkeitskonstante des Kettenwachstums.

### Terminierung

Der Abschluss dieses vereinfachten Schemas ist die Terminierung. Das Grundprinzip stellt hier die Bildung einer „toten Spezies“ ohne Radikalfunktion durch das Zusammentreffen zweier Radikale dar. Eine Möglichkeit ist die Rekombination, wodurch aus zwei wachsenden Polymerketten eine lange Polymerkette ( $P_{n+m}$ ) entsteht. Eine andere Variante ist die Disproportionierung, bei der zwei Polymerketten gebildet werden. Dabei trägt die eine Kette ausschließlich gesättigte Gruppen ( $P_n$ ) und die andere eine terminale Doppelbindung ( $P_m$ ).



mit: P – wachsende Polymerkette und  $P_{n+m}$  – Polymer;  $P_n$  – Polymer mit terminaler gesättigter Gruppe;  $P_m$  – Polymer mit terminaler ungesättigter Gruppe;  $k_{t,r}$  – Geschwindigkeitskonstante der Terminierung über Rekombination;  $k_{t,d}$  – Geschwindigkeitskonstante der Terminierung über Disproportionierung.

Eine spezielle Möglichkeit stellt die Übertagung der Radikalfunktion auf ein zugesetztes Kettentransferreagenz, Lösungsmittel oder Monomer dar. Je nach Wahl der zugesetzten Verbindung handelt es sich hierbei jedoch nicht um eine Abbruchreaktion im eigentlichen Sinn. Die Konzentration der Radikale bleibt nach dieser Reaktion konstant und das gebildete Radikal kann seinerseits eine neue wachsende Polymerkette initiieren.



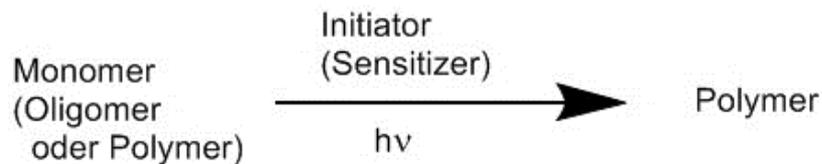
mit: P – wachsende Polymerkette und P<sub>n</sub> – Polymer; X – Transferreagenz; k<sub>tr,x</sub> – Geschwindigkeitskonstante des Kettentransfers.

Diese Polymerisationsart kann vielseitig eingesetzt werden. Dies ist durch die große Anzahl an verwendbaren Monomeren begründet. Die Monomere müssen lediglich eine Doppelbindung aufweisen. Beispiele sind somit viele Vinylverbindungen aber auch Ringsysteme mit Mehrfachbindung. Ein weiterer Vorteil dieser Synthesemethode ist die relative Unempfindlichkeit gegenüber Verunreinigungen. Eine Ausnahme bildet hier Sauerstoff als Diradikal, welches zu Terminierungen führen kann. Nachteile dieser Methode liegen vor allem in der ungenügenden Kontrolle der Synthese. Dazu gehören die Architektur, die Zusammensetzung und die Molmassen der erhaltenden Polymere. Es können weder aufwendige Strukturen generiert noch die Molmasse und dessen Verteilung (PDI > 1,5) präzise eingestellt werden.

Der Vollständigkeit halber soll hier noch die kontrolliert radikalische Polymerisation genannt werden. Dieser Spezialfall soll den Nachteil einer FRP bezüglich der ungleichen Molmassenverteilung ausgleichen. Zentraler Bestandteil ist hier die Kontrolle der Abbruchreaktionen über ein dynamisches Gleichgewicht einer schlafenden und einer wachsenden (Radikal) Spezies. Das Gleichgewicht liegt stark auf der Seite der schlafenden Spezies. Somit liegen nur so viele Radikale vor, wie direkt umgesetzt werden können. Erreicht wird dies über den Einsatz von Kettentransferreagenzien. Für die „*Nitroxide Mediated Polymerization*“ (NMP) werden Nitroxide wie das TEMPO (2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxy) verwendet. Dagegen werden für die „*Atom Transfer Radical Polymerization*“ (ATRP) Organohalogenide eingesetzt, welche über einen reversiblen Ein-Elektronen Prozess die aktive Spezies bildet. Als letztes ist die „*Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Polymerization*“ (RAFT) zu nennen. Hier werden Dithioester oder auch Trithiocarbonate als Kettentransferreagenz benutzt.

## 2.2.2 radikalische Photopolymerisation

Die freie radikalische Polymerisation stellt den Mechanismus der Polymerisation dar und wurde bereits beschrieben (Kapitel 2.2.1). Lediglich der Schritt der Initiierung erfolgt in diesem Fall nicht über die Temperatur, sondern durch elektromagnetische Strahlung (Abbildung 2.2. 2).

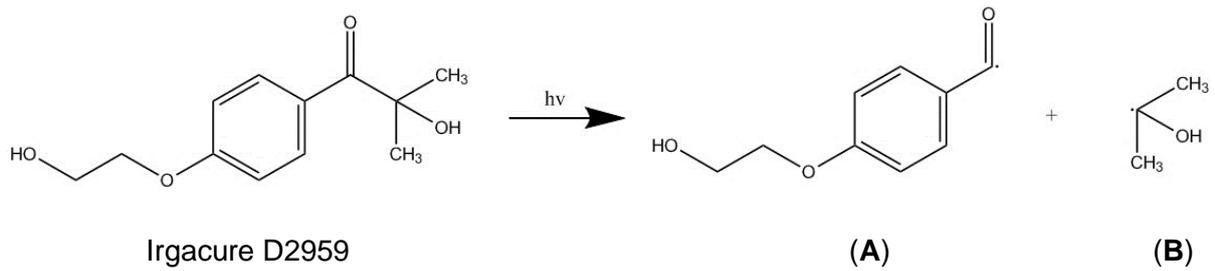


**Abbildung 2.2. 2:** Generelles Funktionsprinzip einer Photopolymerisation.

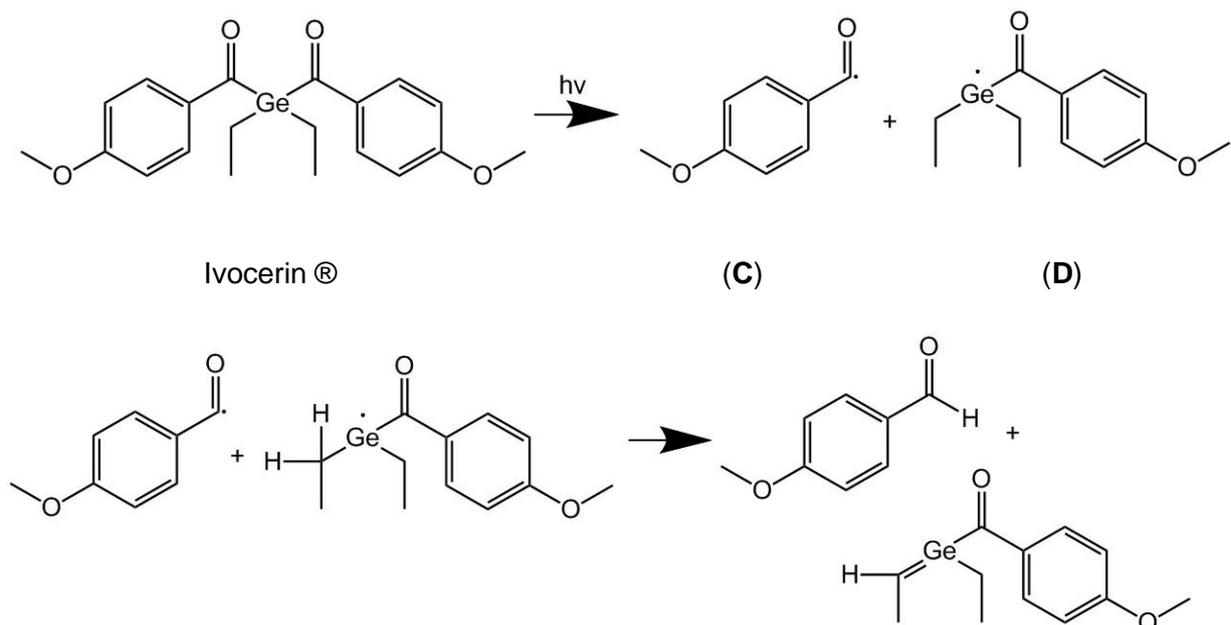
Generell wird durch elektromagnetische Strahlung ( $h\nu$ ) eine funktionelle Gruppe des Edukts, dies kann sowohl ein Monomer, Oligomer oder Polymer sein, direkt angeregt und zur Polymerisation gebracht. Bekannte Vertreter dieser direkten Initiierung sind dabei verschieden substituierte Acrylate bei einer Wellenlänge zwischen 172 und 313 nm.<sup>143–145</sup>

In einigen Fällen kann die direkte Anregung einer funktionellen Gruppe nicht erfolgen. Beispielsweise absorbiert die Funktionalität nicht oder nur unzureichend im betrachteten Wellenlängenbereich. Daher ist die Verwendung eines Photoinitiators erforderlich. Grundsätzlich zeigt diese Verbindung eine Absorption, welche zur Bildung reaktiver Spezies, hier Radikale, führt. Bei der so stattfindenden Photoinitiierung kann die reaktive Spezies entweder durch direkte Photofragmentierung oder aber durch eine Wasserstoffabstraktion erfolgen. Dies ermöglicht die Einteilung von radikalischen Photoinitiatoren in Norrish Typ I und II. Photoinitiatoren vom Norrish Typ I bilden nach der Bestrahlung einer passenden Wellenlänge Radikale über eine  $\alpha$ -Spaltung. Die beiden für diese Arbeit verwendeten Initiatoren können diesem Typ zugeordnet werden. Im Fall des Irgacure D2959 werden ein Benzoylradikal (**A**) und ein tertiäres Radikal (**B**) gebildet (Abbildung 2.2. 3\_1). Das Ivocerin® kann ebenfalls diesem Typus zugeordnet werden. Zunächst werden ebenfalls ein Benzoylradikal (**C**) und in diesem Fall ein Germaniumradikal (**D**) durch eine  $\alpha$ -Spaltung gebildet. An dieser Stelle ist jedoch anzumerken, dass durch eine angeschlossene H-Abstraktion die Radikalfunktionalität verloren geht (Abbildung 2.2. 3\_2). Neben diesen verschieden substituierten Acetophenonen und Acylgermanen können auch Benzoin, Benzile oder Acylphosphanoxide verwendet werden.

1.



2.



**Abbildung 2.2. 3:** Schematische Darstellung zur Erzeugung von Radikalen durch die Initiierung mit Licht bei 1. - Irgacure D2959 in Anlehnung an Wilems et al.<sup>146</sup> 2. – Ivocerin®<sup>147</sup>.

Demgegenüber stehen Norrish Typ II Initiatoren, welche durch eine Wasserstoffabstraktion entstehen. Verwendung finden hier z.B. Derivate des Benzophenone, Thioxanthone und Campherchinon.

Der Vollständigkeit halber sollen hier einige mechanistische Verläufe aufgeführt werden, welche keine direkte Anwendung in dieser Arbeit finden. Dazu zählt die Verwendung von „Sensitizer“, welcher der Aktivierung des Initiators dient. Auch ist die Photopolymerisation nicht ausschließlich auf den radikalischen Verlauf begrenzt. Vielmehr ist auch eine kationische und eine durch Basen bzw. Anionen induzierte Polymerisation möglich. Als Spezialfälle sollen hier die Photoiniferter (Iniferter = Initiator + „transfer agent“ + „terminator“), Photocycloaddition und die Photoquervernetzung aufgeführt werden. Ferner ist es möglich Hybridsysteme zu verwenden, welche eine Kombination aus verschiedenen Mechanismen erlaubt.

Vor- sowie Nachteile dieser Methodik liegen in den Charakteristika von elektromagnetischer Strahlung. Prinzipiell kann eine Reaktion über das An- bzw. Ausschalten der Lichtquelle reguliert werden. Des Weiteren kann durch die Fokussierung der Lichtquelle die Reaktion auf einen bestimmten Punkt beschränkt werden und ermöglicht damit ein hohes Auflösungsvermögen. Aufgrund der hohen Intensität und einer hohen Photonenenergie können hohe Reaktionsgeschwindigkeiten bei geringer Temperatur realisiert werden. Jedoch ist eine Temperaturbeschränkung lediglich durch die Stoffcharakteristika der eingesetzten Komponenten gegeben.

Dennoch müssen vor allem sicherheitsspezifische und wirtschaftsspezifische Faktoren beachtet werden. Da nur absorbiertes Licht einer bestimmten Wellenlänge eine Reaktion initiiert, müssen Lichtquellen mit möglichst schmalen Wellenlängenbereich, z.B. Laser, verwendet werden. Diese sind kostenintensiv und erfordern den Einsatz von fachkundigem Personal. Ferner gilt hier das Lambert Beer'sche Gesetz, wonach eine Abschwächung der Intensität in Abhängigkeit der Probendicke zu berücksichtigen ist. Dies kann zur Inhomogenität des Polymers führen. Überdies zeigen farblose Verbindungen, z.B. AIBN, keine Absorption im relevanten Wellenlängenbereich. Wodurch farbige, zumeist gelbliche, Substanzen verwendet werden müssen. Daraus resultiert eine Einfärbung der synthetisierten Polymere.

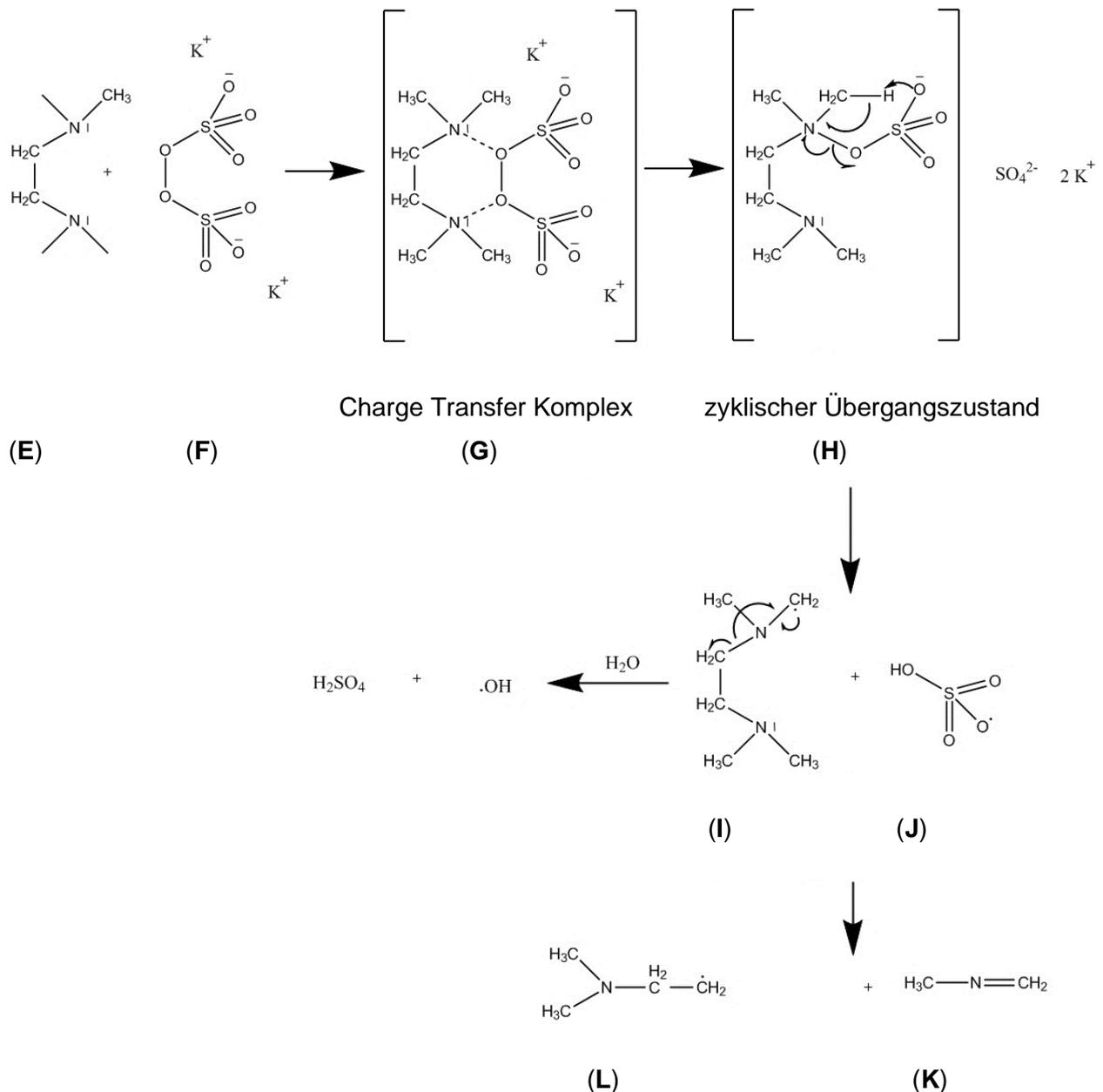
Spezielle Vor- und Nachteile bezüglich der radikalischen Photopolymerisation ergeben sich aus den Eigenschaften der Radikale als reaktive Spezies, wie es bereits im vorangegangenen Kapitel beschreiben wurde. Sauerstoff kann die Reaktion durch den diradikalischen Charakter beeinflussen. Vorteil ist die mögliche Polymerisation in Wasser und die relative Unempfindlichkeit gegenüber Nukleophilen.

### 2.2.3 Radikalische Redoxpolymerisation

Neben Temperatur und Licht können auch verschiedene Redoxsysteme zur Initiierung von Polymerisationen verwendet werden. Hierbei findet häufig Wasserstoffperoxid Verwendung, welches zweiwertigen Eisenionen zu dreiwertigen Eisenionen oxidiert und zudem Hydroxidionen und Hydroxylradikale infolge einer Reduktion bildet. Abgesehen von verschiedenen Eisenverbindungen können z.B.  $\text{Cr}^{2+}$ ,  $\text{V}^{2+}$ ,  $\text{Ti}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ , und  $\text{Cu}^+$ - Verbindungen verwendet werden.<sup>148,149</sup>

In dieser Dissertation wurde Kaliumperoxodisulfat (KPDS) (**F**) als Initiator verwendet. Mit *N,N,N',N'*-Tetramethylethyldiamin (TMEDA) (**E**) als Polymerisationskatalysator, keinem Katalysator im eigentlichen Sinne, können dann neben Hydroxylradikale auch komplexere Radikale gebildet werden. Der zugrundeliegende Mechanismus ist in der nachfolgenden Abbildung dargestellt. Feng *et al.*<sup>150</sup> und Strachota *et al.*<sup>151</sup> schildern dabei die Bildung eines Charge-Transfer-Komplexes (**G**). Dabei koordinieren die freien Elektronenpaare der beiden Stickstoffatome an die Sauerstoffatome des KPDS. Anschließend wird über einen zyklischen

Übergangszustand (**H**) zunächst das erste Sulfation abgespalten. Hier erfolgt daraufhin der erste homolytische Bindungsbruch unter Freisetzung des Radikals (**I**) und einem Sulfatradikal (**J**). Daraus ergeben sich zwei mögliche Reaktionspfade. Im ersten Fall wird das stabilere N-Methylmethanimin (**K**) abgespalten und ein weiteres Radikal (**L**) gebildet. Ist jedoch Wasser vorhanden kommt es zur Bildung von Schwefelsäure und einem Hydroxylradikal.

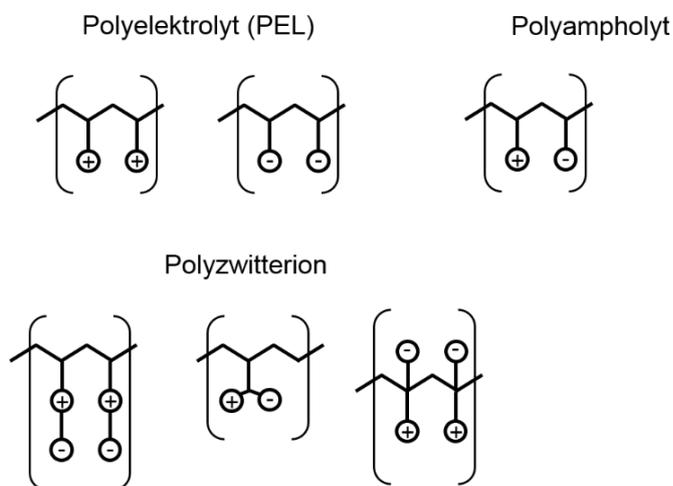


**Abbildung 2.2. 4:** Schematische Darstellung der redoxinitiierten freien radikalischen Polymerisation mit KPDS und TMEDA in Anlehnung an Feng et al. und Strachota et al.<sup>150,151</sup>

Vorteile dieser Methode sind, dass kein externer Stimulus zur Initiierung angewendet werden muss. Sobald die Edukte gemischt werden erfolgt die Bildung der Radikale und damit der Start der Polymerisation. Demgegenüber stehen einige Nachteile, wie z.B. die Bildung von Schwefelsäure im wässrigen Medium.

## 2.2.4 Polyelektrolyte (PEL) mit dem Typus Polyzwitterionen

Unter Polyelektrolyt (PEL) werden laut IUPAC Makromoleküle mit einer erheblichen Anzahl an ionischen oder ionisierbaren funktionellen Gruppen zusammengefasst.<sup>152</sup> Dabei ist zunächst die Einteilung in Polykationen, Polyanionen und Polyampholyten gebräuchlich. Für diese Arbeit sind eine spezielle Form der Polyampholyten, die Polyzwitterionen oder auch Polybetaine, entscheidend, weshalb sich im Folgenden darauf spezialisiert wird. Im Gegensatz zu Polyampholyten tragen diese die entgegengesetzt geladenen Gruppen in einer strukturellen Wiederholeinheit.<sup>152</sup> Dazu ist eine Vielzahl an möglicher Polymerarchitekturen bekannt um dies zu realisieren. Eine Auswahl ist in der Abbildung 2.2. 5 gezeigt. Auch die jeweils entgegengesetzte Ausrichtung der Ladungen und der Einbau in das Polymerrückgrat sind möglich. Entscheidend ist dabei, dass diese Funktionalität über einen breiten pH-Wertbereich erhalten bleibt. Gemeinsam haben alle PEL die mögliche Bildung von PEL-Komplexen, sogenannten Symplexen, welche aufgrund einer hohen Differenz der  $pK_S$ -Werte gebildet werden. Daraus ergeben sich verschiedenen Modelle zur Beschreibung der Wechselwirkungen. Zu nennen wären hier das Leitermodell mit einer Gegenüberstellung entgegengesetzt geladener Funktionalitäten, das „Rührei“-Modell (engl. „*scrambled egg*“) als willkürliches Polymerknäuel und das Sequenzmodell mit teilweiser Gegenüberstellung der Ladungen.



**Abbildung 2.2. 5:** Schematische Darstellung von Polyelektrolyten, Polyampholyten und Polyzwitterionen in Anlehnung an Laschewsky.<sup>153,154</sup>

Die Architektur mit einer positiven und negativen Ladung nacheinander in einer Seitenkette ist dabei am weitreichendsten vertreten.<sup>153</sup> Positive Ladungen werden durch quartäre Ammoniumgruppen und negative Ladungen durch Phosphonate, Carboxylate oder Sulfonate generiert. Die durch Sulfonatgruppen enthaltenen Sulfobetaine nehmen dabei aufgrund ihrer z.T. abweichenden Eigenschaften eine besondere Rolle ein. So zeigen diese Verbindungen nicht den sonst verbreiteten Polyelektrolyteffekt, nachdem die Viskosität von

PEL-Lösungen im reinen Wasser höher wird je geringer die Konzentration des Polymers ist. Erklärt wird dieser Effekt durch Versteifung der Ketten aufgrund von elektrostatischen Abstoßungen. Als Ursache für den „Anti-Polyelektrolyteffekt“ wird dabei der  $pK_s$ -Wert = -2 von Sulfonsäure angegeben. Dadurch kommt es zu keiner Protonierung und die Bildung eines sogenannten „inneren Salzes“ wird bevorzugt. Folglich ist das Molekül makroskopisch neutral über den gesamten pH-Bereich.

Durch Zufuhr einer Salzkomponente kann dies beeinflusst werden. Eine diffuse Ionenwolke um die funktionellen Gruppen kann die Ladung abschirmen. Dies wird beschrieben über die Debye-Länge (auch Abschirmlänge genannt). Vereinfacht zusammengefasst beschreibt die Debye-Länge einen Radius um die Ladung, in der keine gleichgeladenen Ionen auftreten, da diese von gegensätzlich geladenen Ionen abgeschirmt werden. Näherungsweise kann dann angenommen werden, dass in einer Lösung mit hoher Salzkonzentration das Verhalten eines ungeladenen Polymers vorliegt. Auch die erwähnte diffuse Ionenwolke kann über verschiedenste Theorien beschrieben werden. Beispielhaft sei hier die Poisson-Boltzmann- und Manning-Theorie (Gegenionencondensation) genannt. Bekanntester Vertreter des natürlichen Sulfobetains ist das Taurin. Polysulfobetaine wurden zunächst 1958 von R. Hart und D. Timmermann beschrieben.<sup>155</sup>

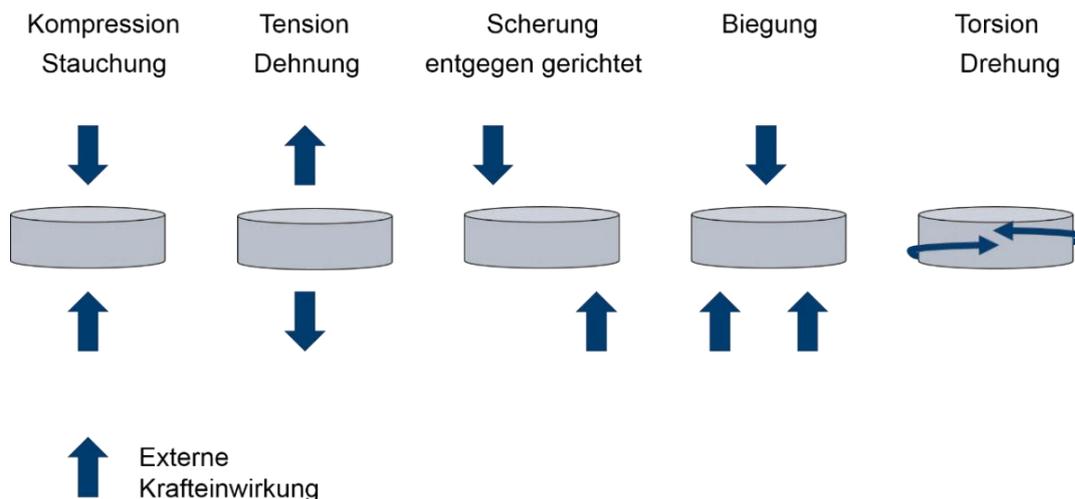
## 2.3 Analytische Methoden

In diesem letzten Teilkapitel sollen die Grundlagen der verwendeten Methoden zusammengefasst werden. Diesbezüglich wurde eine Unterteilung je nach Anwendungsgebiet vorgenommen. Neben allgemeinen mechanischen und thermischen Eigenschaften sollen auch die Strukturaufklärung von Netzwerken, die Festkörperanalytik und biologische Messmethoden vorgestellt werden. Im Vordergrund der Betrachtung stehen hierbei das Messprinzip, die grundlegende Messparameter und die generelle Auswertung der Messdaten in Bezug auf Netzwerke, besonders inhomogene Hydrogele.

### 2.3.1 Mechanische Analyse

Bei der Entwicklung von neuen Materialien oder polymeren Werkstoffen sind vor allem die mechanischen Eigenschaften, je nach Art der Anwendung, entscheidend. Dies belegen zahlreiche DIN-Normen, die die Bestimmung dieser regeln. Dazu gehören neben grundlegenden Begrifflichkeiten (z.B. DIN 1342-1:2003-11 Teil 1: Rheologische Begriffe) auch verschiedene Messmethoden (z.B. DIN EN ISO 3219-2:2021-08) und Regelungen zu spezialisierten Materialklassen, wie z.B. Hochleistungskeramiken (z.B. DIN EN 843-1:2008-08) oder verschiedene Schmieröle bzw. -stoffen (z.B. DIN 51350-6:1996-08). Bezogen auf das Anwendungsgebiet werden dabei verschiedene Anforderungen an das Material gestellt. Dazu gehören z.B. Druck-, Biegefestigkeit (z.B. DIN EN ISO 178:2019-08 Kunststoffe - Bestimmung der Biegeeigenschaften) und die Viskosität (z.B. DIN 1342-2 bis -3:2003-11). Für diese Arbeit sind vor allem Methoden entscheidend, welche für Hydrogele und damit vorrangig sehr weiche Materialien geeignet sind. Jedoch müssen die ausgewählten Methoden auch einen weiten Bereich der mechanischen Eigenschaften abdecken, da Gele im Allgemeinen sowohl viskose, elastische als auch Festkörpereigenschaften aufweisen.

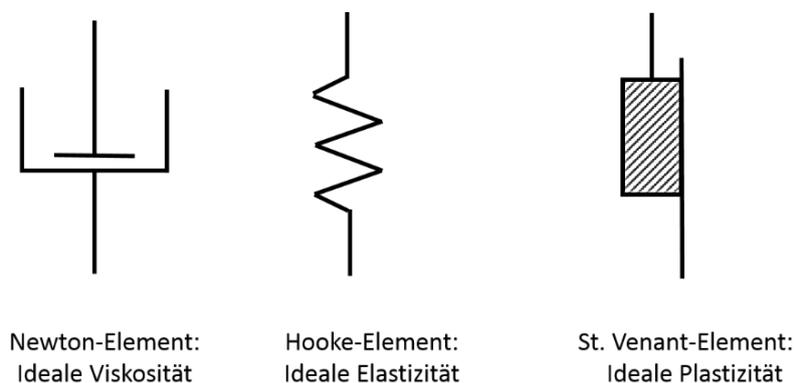
Diesbezüglich ist die Rheologie, also die Lehre von der Deformation und dem Fließverhalten von Materialien, entscheidend. Deformation beschreibt dabei die Änderung der Form bzw. Größe in Abhängigkeit von einer externen Kraft. Im Gegensatz dazu steht das Fließen, als irreversible Deformation. Unterschieden werden kann hierbei in fünf grundlegende Deformationen gemäß Abbildung 2.3. 1. Bei der Kompression geht es um die Verkleinerung und der Tension um die Dehnung und damit Vergrößerung des Materials. Bei der Scherung wirken zwei entgegen gerichtete Kräfte auf den Probenkörper ein. Infolge einer Biegung des Körpers kommt es zu einer Krümmungsänderung. Als letzte Form ist die Torsion dargestellt, bei der es zu einer Verdrehung des Materials kommt.



**Abbildung 2.3. 1:** Schematische Darstellung der fünf Grundtypen der Deformation durch Einwirken einer externen Kraft.

Die reversible Deformation beinhaltet folglich die Elastizität und damit die Fähigkeit nach Beendigung der Krafteinwirkung in den ursprünglichen Zustand zurückzukehren. Die Viskosität (Zähigkeit) wird dabei als „innerer Widerstand“ gegen diese Deformation bezeichnet. Die ideale Viskosität ist bei reinen Flüssigkeiten zu finden und wurde durch Newton beschrieben.

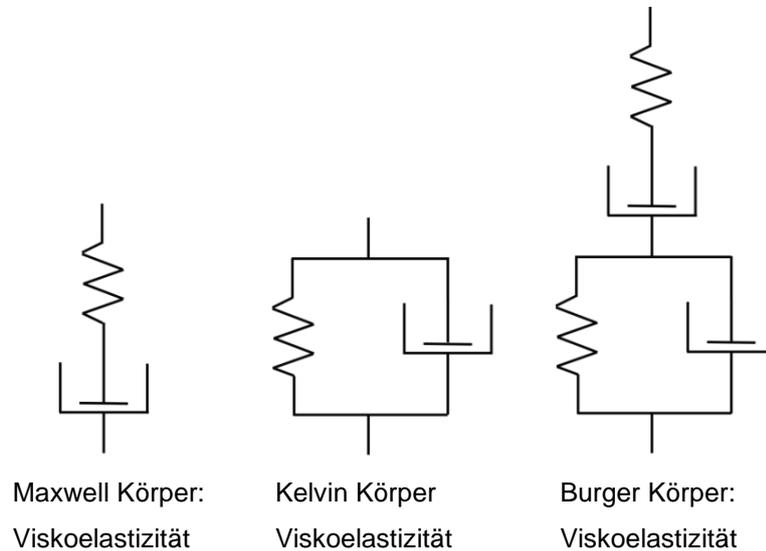
Als rheologisches Modell (Abbildung 2.3. 2) wird hierbei das Newton-Element verwendet, welches als flüssigkeitsgefüllten Dämpfungszyylinder mit einem Kolben dargestellt wird. Die ideale Elastizität wird durch das Hook'sche Element beschrieben. Modellhaft wird dafür eine Feder verwendet. Der Vollständigkeit halber sei an dieser Stelle noch die ideale Plastizität nach St. Venant erwähnt, welches aber für diese Arbeit irrelevant ist. Modelliert wird es durch einen rechteckigen Körper auf einer Oberfläche inklusive Reibung.



**Abbildung 2.3. 2:** Die drei grundlegenden rheologischen Elemente zur Modellierung. Links - ideale Viskosität nach Newton; Mitte - ideale Elastizität nach Hook; Rechts - ideale Plastizität nach St. Venant.

Demnach sind diese Modelle nicht ausreichend zur vollständigen Beschreibung der mechanischen Eigenschaften von Hydrogelen. Zur Beschreibung von viskoelastischen

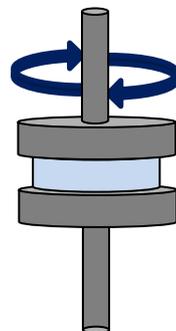
Materialien können zwei grundlegende Körper modelliert werden, um sowohl viskose als auch elastische Anteile beschreiben zu können. Dabei dient die Reihenschaltung der grundlegenden Modelle im Maxwell Körper und der Kelvin Körper als Parallelschaltung als wesentlicher Ausgang. Beispielhaft sei hier der Burger Körper genannt, welcher komplexere Systeme beschreibt (Abbildung 2.3. 3).



**Abbildung 2.3. 3:** Rheologische Körper zur Modellierung von viskoelastischen Eigenschaften. Links - nach Maxwell; Mitte – nach Kelvin; Rechts - nach Burger.

### Oszillationsrheometer

Das Verlust- und Speichermodul, welche die viskosen und elastischen Eigenschaften quantifizieren, können nun mittels Rheometer gemessen werden. Für diese Arbeit wurden Oszillationsversuche durchgeführt, weshalb sich auf diese Methode fokussiert wird. Hierbei wird die Probe zwischen zwei Platten eingespannt (s. Abbildung 2.3. 4). Der Anfangspunkt kann entweder durch die Dicke des Probenkörpers oder durch Bestimmung einer Anfangskraft festgelegt werden. Dies bleibt über die gesamte Messzeit konstant. An die obere Platte wird eine sinusförmige externe Kraft angelegt, wodurch diese auf der Probe rotierend bewegt wird.



**Abbildung 2.3. 4:** Schematische Darstellung der Scherung.

Somit kann durch Messungen der mechanischen Eigenschaften mit nicht-newton'schem Verhalten ein viskoser und ein elastischer Anteil bestimmt werden. Das Speichermodul  $G'$  beschreibt dabei die elastischen Eigenschaften und ist daher als Maß für die gespeicherte Deformationsenergie zu sehen. Das Verlustmodul  $G''$  hingegen beschreibt die viskosen Eigenschaften und ist ein Maß für die an die Umgebung abgegebene Deformationsenergie in Form von Wärmeenergie. Aus der Summe des reellen und des imaginären Teils lässt sich anschließend das komplexe Schubmodul  $G^*$  berechnen (Gl. 10).

$$G^* = G' + iG'' \quad (10)$$

mit:  $G^*$  - Komplexe Schubmodul;  $G'$  - Speichermodul;  $G''$  - Verlustmodul;  $i$  – imaginäre Zahl.

$$G' = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \cdot \cos\delta = G^* \cdot \cos\delta \quad (11)$$

$$G'' = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \cdot \sin\delta = G^* \cdot \sin\delta \quad (12)$$

mit:  $\tau_0$  – Spannung zum Zeitpunkt Null;  $\gamma_0$  Deformation zum Zeitpunkt Null;  $\delta$  – Phasenwinkel.

Mit Hilfe des Verlustfaktors ( $\tan\delta$ ), welcher durch den Quotienten aus dem Imaginärteil und Realteil berechnet wird (Gl. 13), können Aussagen über elastische bzw. viskose Verhalten eines Körpers getroffen werden. Ist  $\tan\delta = 0$  ist die Rede von einem ideal elastischen Körper. Strebt dieser jedoch gegen unendlich ist der Körper ideal viskos.

$$\tan\delta = \frac{G''}{G'} \quad (13)$$

mit:  $\tan\delta$  – Verlustfaktor.

Als Maß für das viskoelastische Verhalten kann die komplexe Viskosität angesehen werden. Die dynamische Viskosität  $\eta$  ist dabei im Realteil enthalten (Gl. 14).

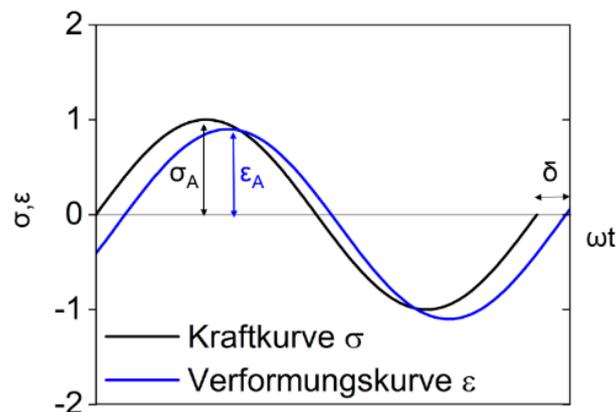
$$|\eta^*| = \sqrt{\left(\frac{G''}{\omega}\right)^2 + \left(\frac{G'}{\omega}\right)^2} \quad (14)$$

mit:  $|\eta^*|$  - Betrag der komplexen Viskosität;  $\omega$  - - Kreisfrequenz  $\omega = 2\pi \cdot f$ ;  $f$  - Frequenz.

Besonderheit ist hierbei, dass die getrennte Bestimmung vom Speicher- und Verlustmodul möglich ist. Außerdem kann daraus der Verlustfaktor  $\tan \delta$  berechnet werden. Zudem erfolgt die Messung der komplexen Viskosität  $\eta^*$ .

**Dynamisch-mechanische Analyse (DMA)**<sup>156,157</sup>

Die dynamisch-mechanische Analyse (DMA) arbeitet nach einem ähnlichen Prinzip. Unterschied ist jedoch, dass am Probekörper eine sich ändernde sinusförmige Kraft angelegt wird. Auch eine frequenz- und oder temperaturabhängige Messung ist möglich. In Abbildung 2.3. 5 sind die messbaren Parameter graphisch dargestellt. Die sinusförmige externe Kraft  $\sigma$  (Abbildung 2.3. 5 schwarze Farbe) erzeugt eine direkte Materialantwort in Form einer Verformungskurve  $\varepsilon$  (Abbildung 2.3. 5 blaue Farbe). Die Phasenverschiebung beider Kurven wird über den Phasenwinkel  $\delta$  angegeben. Über dessen Größe lassen sich die Materialien in elastische, viskose und viskoelastische Materialien einordnen. Elastische Materialien erfahren durch den zugeführten Stress keine Deformation. Dies drückt sich durch einen Phasenwinkel von  $\delta = 0$  aus. Demgegenüber ist der Phasenwinkel bei viskosem Verhalten  $\delta = \pi/2 = 90^\circ$ . Bei viskoelastischem Verhalten strebt der Phasenwinkel gegen  $0^\circ$ , je höher der Anteil an elastischem Verhalten in der Probe ist und gegen  $90^\circ$  je höher der Anteil an viskosem Verhalten ist.

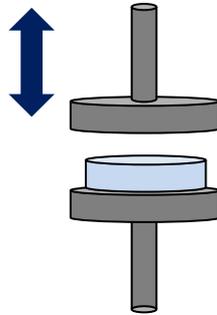


**Abbildung 2.3. 5:** Schematische Darstellung der Phasenbeziehung zwischen Kraftkurve  $\sigma$  und Verformungskurve  $\varepsilon$  mit jeweiliger Amplitude ( $\sigma_A$  bzw.  $\varepsilon_A$ ) und einer Phasenverschiebung um den Phasenwinkel  $\delta$  in Anlehnung an Menard.<sup>157</sup>

Eigentlich gemessen werden hier das komplexe Elastizitätsmodul  $E^*$ . Welcher sich aus einem realen Speicher- ( $E'$ ) und dem imaginären Verlustmodul ( $E''$ ) zusammensetzen. Auch hier ergibt der Quotient dieser beiden Größen den  $\tan \delta$ . Die Bedeutung dieser Parameter ist analog zum schon zuvor beschriebenen komplexen Schubmodul  $G^*$  zu sehen, weshalb auf eine nähere Beschreibung mittels Gleichungen verzichtet wird.

Auch mit dieser Methode können verschiedene Deformationen zur Messgrößenbestimmung in Abhängigkeit vom Material ausgewählt werden. In der betreuten Bachelorarbeit von A.-C. Lehnen<sup>158</sup> und in den Folgemessungen wurde vorrangig die Kompression (s. Abbildung 2.3. 6) verwendet. Anzumerken ist schon an dieser Stelle, dass

dies für Hydrogele nicht die Methode der Wahl darstellt, da aufgrund von Dehnungseffekten des Materials Kraft verloren geht. Zum Zeitpunkt der Messungen waren jedoch keine anderen Methoden zur Bestimmung der mechanischen Eigenschaften verfügbar; weshalb diese trotzdem durchgeführt wurden. Die Daten sind daher nicht als Absolutwert anzusehen.



**Abbildung 2.3. 6:** Schematische Darstellung der Kompression.

Im Gegensatz zum Rheometer können mittels DMA auch temperaturabhängige Messungen durchgeführt werden. Ziel der Messung ist dabei die Bestimmung von probenspezifischen Umwandlungen, z.B. dem Glasübergang bei Polymeren. Nachteil dieser Methode ist eine relative Ungenauigkeit der Messwerte. Dies rührt von unterschiedliche Bestimmungsmöglichkeiten her. Beispielsweise kann der Glasübergang über den Onset der drei Kurven von  $E'$ ,  $E''$  und  $\tan \delta$  und über die Peaks der  $E''$  und  $\tan \delta$  Kurve bestimmt werden. Dies führt zu einer Temperaturdifferenz von bis zu 25°C.

### 2.3.2 Thermische Analyse

Neben den mechanischen Eigenschaften werden auch die Eigenschaften einer Probe in Bezug zur Temperatur  $T$  über verschiedenste DIN-Normen geregelt. Darunter werden Messmethoden zusammengefasst, welche der Thermischen Analyse (TA) zugehörig sind. Diese werden nach DIN 51005-08 über folgende Definition festgelegt: „*Thermische Analyse (TA): Oberbegriff für Methoden, bei denen physikalische und chemische Eigenschaften einer Substanz, eines Substanzgemisches und/oder von Reaktionsgemischen als Funktion der Temperatur oder der Zeit gemessen werden, wobei die Probe einem kontrollierten Temperaturprogramm unterworfen ist*“. Je nach Messgröße können dann unterschiedliche Methoden unterschieden werden. Für diese Arbeit sind dabei ausschließlich die Thermogravimetrie (TGA), die Differenzthermoanalyse (DTA) und die Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC) von Bedeutung. Der Vollständigkeit halber sollen hier noch die Dilatometrie (DIL – Messung der Längenänderung) und Thermomechanische Analyse (TMA – Messung der Torsion oder Längenänderung unter Last) genannt sein.

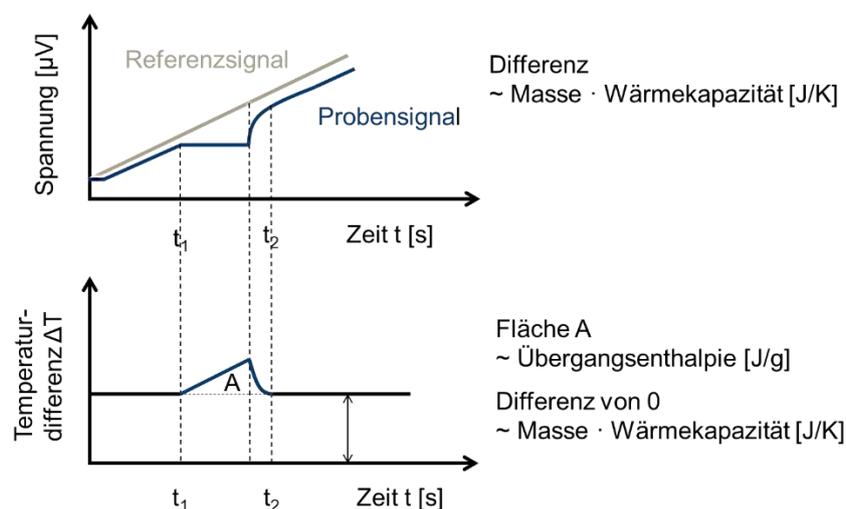
### **Thermogravimetrie (TGA) und Differenzthermoanalyse (DTA)**

Bei der Thermogravimetrie (TGA) wird die Masse  $m$  bzw. die Massenänderung  $\Delta m$  der Probe in Abhängigkeit von der Temperatur oder Zeit gemessen. Somit können temperaturinduzierte Prozesse, vor allem Zersetzungsvorgänge, im Bereich bis  $< 1500\text{ °C}$  quantitativ erfasst werden. Dabei kann je nach Wahl der atmosphärischen Bedingungen Zusatzinformationen erhalten werden. Unter Einwirkung von synthetischer Luft können oxidative Prozesse und in inertem Gas ( $\text{N}_2$  oder Argon) die Pyrolyse analysiert werden. Wichtiger Bestandteil dieser Messmethodik ist die Thermowaage, die nach der Kompensationsmethode arbeitet. Dabei wird der Waagebalken über zwei Spulenpaare in einer Gleichgewichtslage gehalten. Diese werden in Geber- und Kompensationseinheit eingeteilt. In die Gebereinheit tauchen Ferritkerne und in die Kompensationseinheit Permanentmagnete, welche beide am Waagebalken befestigt sind. Die Gleichgewichtslage wird durch einen Ausgleich der Induktivitäten erreicht. Wird nun die Probe mit einer konstanten Heizrate erhitzt kann eine Massenänderung induziert werden. Eine Veränderung der Gleichgewichtslage des Waagebalkens ist die Folge. Durch eine Regelelektronik erhöht die Kompensationsspule die Stromstärke bis ein neues Gleichgewicht hergestellt wurde. Somit wird die Massenänderung nur indirekt über die Stromstärke gemessen.

Im Gegensatz dazu wird bei der Differenzthermoanalyse (DTA) eine Probe gegen ein inertes und thermisch stabiles Referenzmaterial (meistens Aluminiumoxid  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) vermessen. Beide Substanzen werden infolge eines identischen Temperaturprogramms erwärmt. Durch eine exotherme oder endotherme Reaktion der Probe kann ein Temperaturunterschied oder eine Wärmekapazitätsdifferenz hervorgerufen werden. Auch hier wird dieser Unterschied nicht direkt gemessen, sondern über einen Unterschied in der Thermospannung. Beide Methoden können nun simultan verwendet werden. Dies erlaubt eine leichtere Interpretation der Vorgänge infolge einer thermischen Behandlung. Außerdem können die gasförmigen Zersetzungsprodukte über ein gekoppeltes Massenspektrometer zusätzlich analysiert werden. Dies ermöglicht eine noch genauere Probencharakterisierung. Es existieren eine Reihe solcher gekoppelten Methoden, die unter dem Begriff Simultane Thermoanalyse (STA) zusammengefasst werden können.

**Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC)**<sup>57</sup>

Das Messprinzip der Dynamischen Differenzkalorimetrie (engl. „*differential scanning calorimetry*“, DSC) kann analog zu DTA gesehen werden. In diesem Fall wird lediglich die Wärmestromdifferenz gemessen, welche in Korrelation zu einer Temperaturdifferenz steht. Auch in diesem Fall wird eine Probe gegen einen Referenztiegel (meistens Aluminium) mit identischem Temperaturprogramm vermessen. Infolge von temperaturbedingten Änderungen der Probe, z.B. Phasenumwandlungen, erfolgt kein linearer Anstieg der Spannung des Thermoelements. Diese ist proportional zur Temperatur. In der nachfolgenden Abbildung 2.3. 7 wird dies schematisch am Beispiel eines endothermen Prozesses gezeigt. Durch Differenzbildung von Referenz- und Probensignal werden dann die Probensignale ermittelt. Die Fläche A unterhalb eines Peaks ist dabei proportional zur Übergangsenthalpie.



**Abbildung 2.3. 7:** Schematische Darstellung der Datengenerierung zur Ermittlung von Übergangsenthalpien mittels dynamische Wärmestromdifferenzkalorimetrie in Anlehnung an Firma Netzsch.<sup>159</sup> oben – Auftragung der Spannung der Thermoelemente gegen die Zeit; unten – Auftragung des Differenzsignals gegen die Zeit.

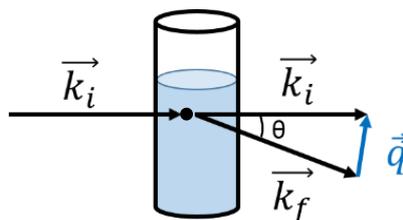
Der Vollständigkeit halber soll hier noch die dynamische Leistungsdifferenzkalorimetrie genannt werden. Hier wird die elektrische Leistung als Funktion der Temperatur gemessen, um in beiden Probentiegeln die Temperatur konstant zu halten. Verwendungen findet diese Methode zur Charakterisierung von Werkstoffen und Chemikalien in Hinblick auf Phasenübergänge. Beispielsweise können somit Glasübergangstemperaturen von Polymeren bestimmt werden.

### 2.3.3 Analyse des Netzwerks

Wie bereits beschrieben handelt es sich bei Gelen um kohärente Systeme. Dies beschreibt Systeme, welche aus einer dispergierten Substanz (hier: polymeres Netzwerk) und einem Dispersionsmittel (hier: Wasser) zusammensetzen. Diese so erhaltenen Hydrogele setzen sich folglich aus einer Gerüstsubstanz, Hohlräumen und einer Flüssigkeit zusammen. Demnach gestaltet sich die Analytik solcher Systeme als komplex, da es sich hierbei um einen Übergangszustand zwischen Flüssigkeit und Festkörper handelt.<sup>57</sup> Infolgedessen sollen nachfolgend die Grundlagen einiger verwendeter Methoden zusammengefasst werden, welche sich mit der Strukturaufklärung der Hydrogele beschäftigen.

#### Zeitaufgelöste dynamische Lichtstreuung (TR-DLS)<sup>57,160–162</sup>

Zunächst kann die Ausbildung (Gelierung) eines Netzwerks aus einer Lösung verfolgt und charakterisiert werden. Dazu soll die dynamische Lichtstreuung (DLS) verwendet werden. Das generelle Prinzip der DLS beruht dabei vorrangig auf einer elastischen Streuung von Laserlicht an der Probe. Alle weiteren Streuphänomene wie Raman- und Brillouin Streuung werden hier nicht zur Messwertaufnahme verwendet. Trifft also Laserlicht bekannter Frequenz auf ein Streuzentrum wird dieses ohne Energieverlust gestreut. Unter Berücksichtigung des Wellencharakters des Laserlichts werden nach dem Huygenschen Wellenprinzips<sup>163</sup> neue Elementarwellen am Streuzentrum ausgesendet, welche anschließend interferieren. In der nachfolgenden Abbildung 2.3. 8 ist die elastische Streuung im Vektorraum dargestellt. Der einfallende Wellenvektor  $\vec{k}_i$  trifft in der Probenlösung auf ein Streuzentrum. Zwischen  $\vec{k}_i$  und dem gestreuten Wellenvektor  $\vec{k}_f$  spannt sich der Streuvektor  $\vec{q}$  mit einem Streuwinkel  $\theta$  auf. Somit kann  $\vec{q}$  über Differenzbildung der gestreuten und einfallenden Wellenvektoren gebildet werden.



**Abbildung 2.3. 8:** Schematische Darstellung des Streuvektors  $\vec{q}$  mit Hilfe des einfallenden Wellenvektors  $\vec{k}_i$  und des gestreuten Wellenvektors  $\vec{k}_f$  mit dem Streuwinkel  $\theta$  in Anlehnung an Berne et al.<sup>161</sup> and Brookhaven Instruments Cooperation<sup>164</sup>.

Bei sehr kleinen Streuwinkeln kann der Betrag des Streuvektors mit der nachfolgenden Gleichung 15 beschrieben werden.

$$|\vec{q}| = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \quad (15)$$

mit:  $|\vec{q}|$ - Betrag des Streuvektors;  $n$  – Brechungsindex;  $\lambda$  – Wellenlänge der Strahlung;  $\theta$  – Streuwinkel.

Des Weiteren ist auch die quasielastische Streuung mit Energieverlust zu berücksichtigen. Betrachtet man ausschließlich hochverdünnte und ideale Systeme kann die hiermit hervorgerufene Frequenzverschiebung über die Dynamik der Streuzentren und damit der Brownschen Molekularbewegung erklärt werden. Folglich wird eine Fluktuation der Streuintensität durch Verlagerung der Streuzentren gemessen. Der Doppler Effekt führt zudem zu einer Verbreiterung aufgenommener Frequenzen. Die Verbreiterung im Bereich von  $10^{-10}$  –  $10^{-12}$  relativer Linienbreite kann nicht im Frequenzraum detektiert werden, weshalb eine Fourier-Transformation notwendig ist. Daher wird die Messwertaufnahme im Zeitraum als Relaxationsfunktion durchgeführt (reziproker Raum). Unter Ausnutzung des Dissipations-Fluktuation-Theorem (Wiener-Tschin-Tschin-Theorem) wird dann die Fluktuationsneigung in Form von Intensitäten gemessen. Prinzipiell ist bei größeren Partikeln die Fluktuation langsamer als bei kleineren Partikeln. In Lösung kann also aus einer DLS Messung eine Intensitätskorrelationsfunktion 2. Ordnung  $g^{(2)}(q, \tau)$  (Gl. 16) erhalten werden. Diese beschreibt die Streuintensität in Abhängigkeit von der Zeit.

$$g^{(2)}(q, \tau) = \frac{\langle I(q,0)I(q,\tau) \rangle}{\langle I(q,0) \rangle^2} \quad (16)$$

mit:  $I(q, \tau)$  – Streuintensität;  $q$  – Betrag des Streuvektors;  $\tau$  – Abklingzeit;  $\langle \rangle$  - Durchschnitt.

Diese kann dann mit Hilfe der Siegert Relation in eine Intensitätskorrelationsfunktion 1.

Ordnung  $g^{(1)}(\tau)$  überführt werden (Gl. 17).

$$g^{(2)}(q, \tau) = 1 + \beta [g^{(1)}(q, \tau)]^2 \quad (17)$$

mit:  $\beta$  – Korrekturfaktor zur Berücksichtigung des optischen Aufbaus.

Dahinter steckt zunächst eine Überführung in die Feldkorrelationsfunktion zur Einbeziehung von Wechselwirkungen. Um daraus Informationen bezüglich der streuenden Partikel gewinnen zu können ist im einfachsten Fall von monodispersen Objekten in einer verdünnten Lösung auszugehen. Dann kann die Intensitätskorrelationsfunktion 1. Ordnung über einen exponentiellen Abfall beschrieben werden (Gl. 18).

$$g^{(1)}(\tau) = \exp(-\Gamma\tau) \quad (18)$$

mit:  $\Gamma$  – Abklingrate.

Die Abklingrate  $\Gamma$  korreliert mit dem Diffusionskoeffizienten  $D$  und kann über eine halblogarithmische Auftragung von  $g^{(1)}(\tau)$  gegen  $\tau$  erhalten werden (Gl. 19).

$$\Gamma = q^2 \cdot D \quad (19)$$

Der Vollständigkeit halber soll darauf hingewiesen werden, dass bei polydispersen Systemen die Verteilungsfunktion der Abklingzeit  $G(\Gamma)$  verwendet werden muss. Dazu ist eine Reihe von Methoden vorhanden um eine Umwandlung zu gewährleisten. Beispielsweise wird die “*constrained regularization method*” (CONTIN) verwendet.<sup>165</sup> Auch daraus kann dann  $\Gamma$  bzw.  $D$  bestimmt werden. Aus dem Diffusionskoeffizienten  $D$ , welcher die Intensitätsfluktuation widerspiegelt, kann dann über die Stokes-Einstein-Gleichung der hydrodynamische Radius  $r_h$  berechnet werden (Gl. 20).

$$r_h = \frac{kT}{6\pi\eta_0 D} \quad (20)$$

mit:  $r_H$  – hydrodynamischer Radius;  $k$  – Boltzmann-Konstante;  $T$  – Temperatur;  $\eta_S$  – Viskosität des Lösungsmittels;  $D$  – Diffusionskoeffizient.

Für Netzwerke, speziell Gele, kann dieses allgemeine Prinzip nur bedingt angewendet werden. Zum einen ist die bereits erwähnte Problematik des Aggregatzustandes zu berücksichtigen. Zum anderen werden Gele grundlegend den nicht-ergodischen Systemen zugeordnet.<sup>166</sup> Darunter werden dynamische Systeme verstanden, dessen Verhalten nicht über Mittelung bestimmt werden kann. Für frei bewegliche Teilchen wird angenommen, dass mit der Zeit jeder Punkt im Raum eingenommen wurde. Daher ist eine Mittelung sowohl über Zeit als auch Raum möglich. Im Netzwerk ist die Bewegung durch die chemischen Vernetzungspunkte limitiert. Eine Mittelung des Verhaltens ist daher nicht möglich. Folglich müssen zwei Komponenten der Intensität berücksichtigt werden (Gl. 21).

$$I = I_F + I_C \quad (21)$$

mit:  $I$  – Streuintensität;  $I_F$  – Intensität der zeitabhängigen Fluktuationskomponente;  $I_C$  – Intensität der statischen Komponente.

Vor allem  $I_C$  ist abhängig von der Detektorrichtung. Daher ist eine winkelabhängige Messung angebracht. Die Korrelationsfunktion muss folglich um den Aspekt der Probenposition angepasst werden. Diese Erweiterung wurde von Joosten *et al.*, in Form des Faktors  $X_p$

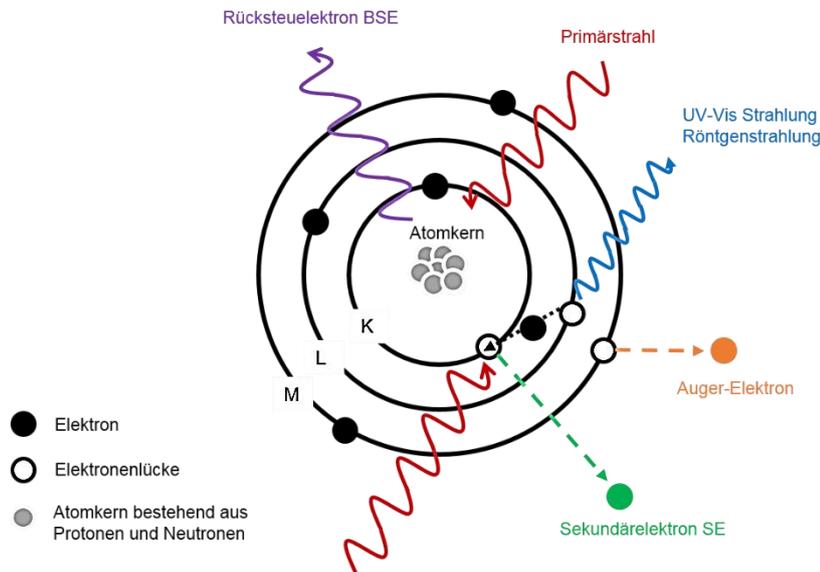
(Verhältnis von  $I_F$  zu  $I$ ) und des Faktors  $\sigma_I^2$  (mittlerer quadratische Intensitätsfluktuationswert), durchgeführt.<sup>167</sup> Dies ermöglicht auch dann die Ermittlung von  $D$ .

### **Rasterelektronenmikroskopie (REM)**<sup>168</sup>

Zur bildgebenden Analytik und damit die Untersuchung der Morphologie einer Probe kann die Elektronenmikroskopie verwendet werden. Im Falle eines Rasterelektronenmikroskops (REM) wird ein Elektronenstrahl in einer Kathode erzeugt, um die Oberfläche einer Probe abzubilden. Eingesetzt werden dabei z.B. Wolframhaarnadel-, Feldemissionskathoden oder Lanthanhexaboridkristalle, welche sich vorrangig in der Energie (0,1 - 30 keV) der emittierten Elektronen unterscheiden. Damit einher gehen dann Aspekte wie Kosten, Lebensdauer und Betriebstemperatur. Der so erzeugte Elektronenstrahl wird anschließend durch einen Wehneltzylinder fokussiert und in Richtung des elektronenoptischen Systems beschleunigt. Kondensorlinsen und -blenden erzeugen dann den gebündelten und fokussierten Elektronenstrahl, welcher durch eine Objektivlinse auf die Probenoberfläche gelenkt wird. Dazu werden Ablenkspulen verwendet, die durch Anlegen einer Sägezahnspannung ein periodisch wechselndes Magnetfeld erzeugen. Dadurch wird der Elektronenstrahl in x und y-Richtung verändert, weshalb die Probe „abgerastert“ werden kann. Die Wechselwirkungen des Primärelektronenstrahls mit der Probenoberfläche erzeugen verschiedene Strahlungen, die mittels geeigneter Detektoren, z.B. Szintillationsdetektoren, analysiert werden können.

Die möglichen Wechselwirkungen von Elektronen mit Materie, welche für die Aufnahmen mittels REM entscheidend sind, werden in einer sogenannten Streubirne zusammengefasst.<sup>169,170</sup> Darunter wird das Wechselwirkungsvolumen dargestellt, welche abhängig von der Eindringtiefe des Strahls in die Probe ist. Grundlage hierfür sind die elastische und unelastische Streuung. Bei der elastischen Streuung wird der Primärstrahl in der Atomhülle abgelenkt. Es kommt zu keinem Energieverlust. Bei einer Ablenkung von 90° wird von Rückstreuелеktronen (engl. „*back scattering electrons*“ BSE Abbildung 2.3. 9 lila) gesprochen, welche eine Energie von  $> 50$  eV besitzen und bei einer Eindringtiefe von ca. 1  $\mu\text{m}$  auftreten. Genutzt werden könne diese z.B. zur Unterscheidung von Atomkernen mit höherer Ordnungszahl, da hier mehr Elektronen rückgestreut werden, wodurch hellere Bereiche im aufgenommenen Bild erscheinen. Bei einer unelastischen Streuung tritt ein Energieverlust auf. Trifft der Primärstrahl auf ein Elektron in einer Eindringtiefe von ca. 10 nm kann dies herausgeschlagen werden. Diese Sekundärelektronen (SE, Abbildung 2.3. 9 grün) besitzen eine Energie von  $< 50$  eV und werden zur Abbildung der Topografie der Probenoberfläche genutzt. Die entstehende Elektronenlücke wird dann durch ein Elektron aus einem höheren Energieniveau aufgefüllt, wobei Energie in Form von elektromagnetischer Strahlung, z.B. UV-Vis Licht oder Röntgenstrahlung, emittiert wird (Abbildung 2.3. 9 blau). Dies kann wiederum dazu führen, dass ein Energieübertrag auf ein Elektron eines höheren

Energieniveaus stattfindet. Das Elektron wird dann als Auger-Elektron emittiert (Abbildung 2.3. 9 orange) und wird nur an der direkten Probenoberfläche beobachtet.



**Abbildung 2.3. 9:** Vereinfachte Darstellung der Wechselwirkung vom Primärstrahl (rot) mit einem Atom in Anlehnung an Szeifert<sup>171</sup> und Gharibkandi et al.<sup>172</sup>.

Vorteil dieser Methode ist die deutlich verbesserte Auflösung, also den Mindestabstand zweier nebeneinander liegender Objekte, im Vergleich zu einem konventionellen Lichtmikroskop. Mit einem REM können dabei bis zu 1 nm kleine Strukturen erkannt werden.<sup>168</sup> Mittels Lichtmikroskop ist lediglich eine Auflösung von 200 nm möglich.<sup>173</sup> Den Grundsatz zur Beschreibung wird durch die nachfolgende Gleichung (22) von Abbe gesetzt.

$$d = \frac{0,61 \cdot \lambda}{n \cdot \sin \alpha} \quad (22)$$

mit: d – Auflösung;  $\lambda$  – Wellenlänge; n – Brechungsindex;  $\sin \alpha$  – numerische Apertur der Linse.

Unter Berücksichtigung des Wellencharakters eines Elektrons kann die Wellenlänge berechnet werden, allerdings ist hier die Beschleunigungsspannung zu berücksichtigen. Weitere Faktoren wären überdies die Zusammensetzung und Beschaffenheit des Mikroskops und die Eigenschaften der Probenoberfläche. Diese minimieren die theoretische Auflösung von 1,6 pm.

Ein Nachteil dieser Methode ist die Aufladung von Proben ohne elektrische Leitfähigkeit. Um dem entgegenzuwirken ist eine aufwendige Präparation mittels leitender Materialien erforderlich. Verwendung finden hier vor allem Pasten auf Kohlenstoffbasis oder bedampfen mit Metallen oder Kohlenstoff im Argonplasma. Weiterer Nachteil ist die Messung unter Vakuum, wodurch biologisches Material und Proben mit Lösungsmittelanteil so nicht

untersucht werden können. Die Entfernung vom Lösungsmittel ist in der Regel mit Strukturveränderungen verbunden. Daher werden alternativ dazu z.B. „*environmental scanning electron microscope*“ (ESEM) verwendet. Ein geringeres Vakuum während der Messung erlaubt es auch Lösungen und Proben mit hohem Lösungsmittelanteil, z.B. Wasser, zu untersuchen. Nachteilig ist hierbei besonders die verringerte Auflösung. In dieser Arbeit wurde das Kryo-REM verwendet. Hier befindet sich die Probe in einer Thermokammer, welche Messungen bei -120°C ermöglichen. Auch in diesem Fall ist die Probenpräparation aufwendig, da neben einem Einfrieren der Probe mit flüssigem Stickstoff, schneiden des gefrorenen Materials und ätzen der Oberfläche durch Sublimation des Eises auch ein bedampfen mit Platin erfolgt. Jedoch können mit dieser Technik Strukturen im Material mit hohem Wasseranteil erhalten bleiben.

### **Niederfeld-Kernspinresonanzspektroskopie an Festkörpern speziell Netzwerken**<sup>5 174–181</sup>

Mittels Kernspinresonanz- (NMR) Spektroskopie kann die Struktur von verschiedensten Molekülen bestimmt werden, wodurch die eindimensionale NMR-Spektroskopie zu den meist verwendeten Methoden in der Chemie zählt.<sup>174</sup> Kurz zusammengefasst ist hierbei die Grundlage die Wechselwirkung von Kerndipolen mit einem externen magnetischen Feld, wobei der Drehimpuls  $P$  und das gyromagnetische Verhältnis  $\gamma$  der einzelnen Kerne beachtet werden muss. Demnach präzedieren die Kerne mit der Larmorfrequenz  $\nu_L$  um die z-Achse. Im Magnetfeld können verschiedene energetische Zustände der Kerne, die Kern-Zeeman-Niveaus, beschrieben werden. Infolge eines externen Magnetfeldes mit einer Frequenz, der der Larmorfrequenz entspricht, kann ein Übergang zwischen den Energieniveaus durch Absorption oder Emission induziert werden. Dies wird als Resonanzbedingung (Gl. 23) bezeichnet.

$$\nu_L = \nu_1 = \left| \frac{\gamma}{2\pi} \right| B_0 \quad (23)$$

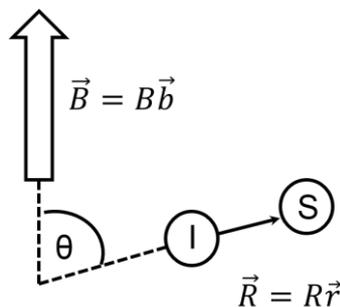
mit:  $\nu_L$ - Larmorfrequenz;  $\nu_1$ - Frequenz der eingestrahlten elektromagnetischen Welle;  $\gamma$  – gyromagnetisches Verhältnis;  $B_0$  – statisches Magnetfeld.

Diese ist charakteristisch für jeden Kern. Die endgültige Strukturaufklärung ist jedoch nur durch den Aspekt der Abschirmung bzw. Entschirmung realisierbar. In Abhängigkeit von benachbarten Kernen, dessen Elektronendichte und der Art der chem. Bindung wird das effektive magnetische Feld um den betrachteten Kern verändert. Nun wird gegen einen

---

<sup>5</sup> Anmerkung: Im Bereich der Niederfeld Magnetresonanz Spektroskopie ist eine Übersetzung der englischen Fachtermini in der Regel nicht möglich. Lediglich in Ausnahmefällen sind ausschließlich eher ungebräuchliche Übersetzungen realisierbar. Ich bitte daher die vermehrt auftretenden Anglizismen in diesem Teilkapitel zu entschuldigen.

Standard, i. d. R. ein deuteriertes org. Lösungsmittel, vermessen. Aus dieser chemischen Verschiebung  $\sigma$  ist dann die Zuordnung möglich. Infolge von Kopplungen mit magnetisch nicht äquivalenten Kernen kann zudem die Kopplungskonstante  $J$  bestimmt werden. Jedoch sind diese Wechselwirkungen über einzelne Bindungen oder über wenige Angstrom über den Raum möglich. Beispielhaft sei hier auf den Kern-Overhauser-Effekt (NOE; engl. „*nuclear overhauser enhancement*“) verwiesen. Dieser ist lediglich bei einem Abstand der koppelnden Kerne von  $< 5 \text{ \AA}$  möglich.<sup>174</sup> Im Gegensatz dazu ist die für die Niederfeld-NMR-Spektroskopie relevante dipolare Kopplung<sup>182</sup> weitreichender und ermöglicht daher auch die Charakterisierung der räumlichen Anordnung. Die dipolare Kopplung (auch Dipol-Dipol-Kopplung genannt) kann in flüssigem Aggregatzustand vernachlässigt werden, da diese sich durch Translationsbewegungen und Rotationen des Moleküls herausmittelt. In Festkörpern ist diese jedoch aufgrund der Ordnung und Ausrichtung der Moleküle dominierend.<sup>182</sup> Betrachtet man sich vereinfacht ein statisches System zweier Spins I und S ist die dipolare Kopplung durch einen internuklearen Vektor  $\vec{R}$  und einen magnetischen Feldvektor  $\vec{B}$  mit einem dazwischenliegenden Winkel  $\theta$  zu beschreiben (Abbildung 2.3. 10).



**Abbildung 2.3. 10:** Schematische Darstellung der dipolaren Kopplung im statischen System in Anlehnung an Kramer et al.<sup>183</sup> Beschrieben wird hier die Wechselwirkung der Spins I und S. Verbunden sind diese über den internuklearen Vektor  $\vec{R}$ , welcher sich aus dem Abstand  $R$  der Spins und dem dazugehörigen Einheitsvektor  $\vec{r}$  in Richtung  $\vec{R}$  zusammensetzt. Der magnetische Feldvektor  $\vec{B}$  kann analog über  $B$  und  $\vec{b}$  beschrieben werden. Der Winkel zwischen diesen Vektoren wird als  $\theta$  bezeichnet.

Diesbezüglich existieren eine Vielzahl verschiedener Hamiltonoperatoren, um diese Beziehung mathematisch zu beschreiben. Beispielhaft sei hier der gekürzte Hamiltonoperator für den Fall von homonuklearen Kernen genannt (Gl. 24).

$$\hat{H}_D = 2\pi D \left\{ I_{z^L} \cdot S_{z^L} - \frac{1}{2} I_{x^L} \cdot S_{x^L} - \frac{1}{2} I_{y^L} \cdot S_{y^L} \right\} \quad (24)$$

mit:  $\hat{H}_D$ - Hamiltonoperator der dipolaren Kopplung;  $D$  – dipolare Kopplungskonstante.

Die darin enthaltene dipolare Kopplungskonstante  $D$  kann wiederum über folgende Gleichung 25 beschreiben werden. Daraus wird ersichtlich, dass die dipolare Kopplung um den Faktor

$R^{-3}$  abnimmt. Dies erklärt die räumlich weitreichendere Kopplung als der zuvor angegebene NOE.

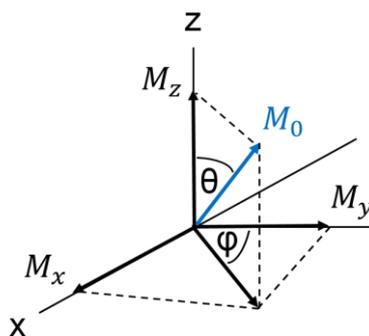
$$D = \frac{\kappa}{R^3} \left( \cos^2 \theta - \frac{1}{3} \right) \quad (25)$$

$$\kappa = -\frac{3}{8\pi^2} \gamma_I \gamma_S \mu_0 \hbar \quad (26)$$

mit:  $\gamma$ - gyromagnetisches Verhältnis der Kerne I und S;  $\mu_0$  – magnetische Feldkonstante;  $\hbar$  - Plancksches Wirkungsquantum.

Im realen System ist der Vektor  $\vec{R}$  jedoch zeitabhängig, wodurch der winkelabhängige Term über alle Vorzugsausrichtungen gemittelt werden muss. Außerdem ist eine zumindest teilweise Ausrichtung der Moleküle Voraussetzung, damit dieser Term nicht Null ergibt. Dies ergibt dann die residuale dipolare Kopplungskonstante. Diese findet sich in der Literatur unter verschiedenen Synonymen wieder. Zu nennen wäre z.B. hier  $D_{RDC}$  (engl. „*residual dipolare coupling constant*“),  $D_{ij}$  oder auch  $D_{res}$ . Einheit unter Verwendung der SI-Einheiten ist Hertz.

Neben der dipolaren Kopplung sind Relaxationseffekte zu berücksichtigen. Diese treten auf, da nach der Anregung mit der Resonanzfrequenz Quermagnetisierungen und Änderung der Besetzungsverhältnisse der Energieniveaus ausgelöst werden. Als Triebkraft dient die Rückkehr in den Gleichgewichtszustand der Kernmagnetisierung. Zu unterscheiden ist hier in die longitudinale Relaxationszeit  $T_1$  (Spin-Gitter-Relaxation) und die transversale Relaxation  $T_2$  (Spin-Spin-Relaxation). Um diese beiden Prozesse näher erläutern zu können, ist zunächst die Auswirkung eines Impulses auf das Spinsystem relevant.



**Abbildung 2.3. 11:** Schematische Darstellung des makroskopischen Magnetisierungsvektors  $M_0$  in Anlehnung an die z-Achse in einem ortsfesten Koordinatensystem.<sup>174</sup>

In Abbildung 2.3. 11 ist dies schematisch dargestellt. Der Impuls lenkt dabei den makroskopischen Magnetisierungsvektor  $M_0$  um einen Winkel  $\theta$  aus der Gleichgewichtslage aus und präzediert mit der zuvor beschriebenen Larmorfrequenz  $\nu_L$ . Unter einem ortsfesten Koordinatensystem, wie in der Abbildung dargestellt, können dann Koordinaten  $M_x$ ,  $M_y$  und

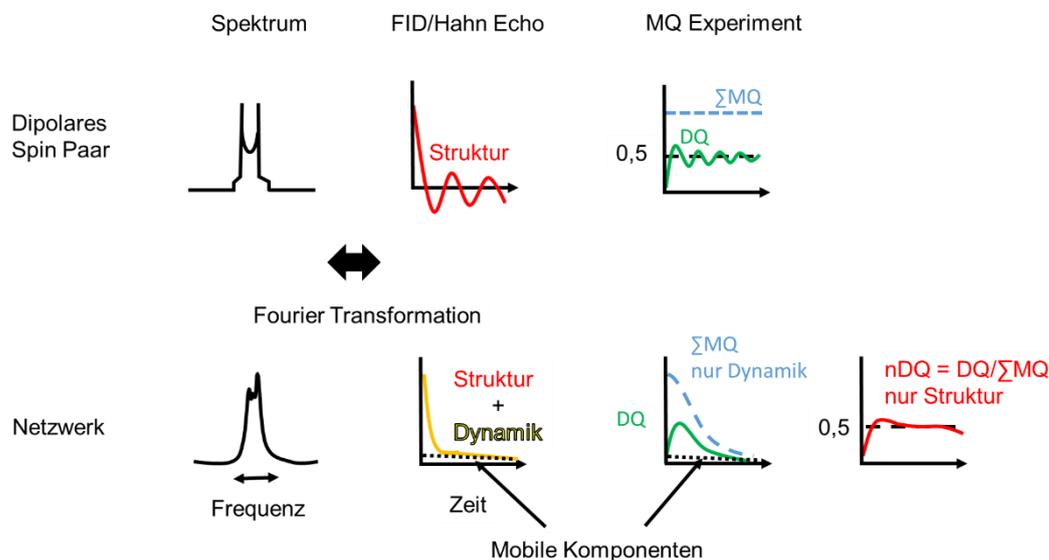
$M_z$  für  $M_0$  beschrieben werden. Infolge der Relaxation strebt  $M_0$  wieder  $M_z$  entgegen. Mathematisch können jetzt zwei Geschwindigkeitskonstanten erster Ordnung mit Hilfe der Blochschen Gleichung beschrieben werden.

$$\frac{dM_z}{dt} = -\frac{M_z - M_0}{T_1} \quad (27)$$

$$\frac{dM_{x'}}{dt} = -\frac{M_{x'}}{T_2} \quad \text{und} \quad \frac{dM_{y'}}{dt} = -\frac{M_{y'}}{T_2} \quad (28)$$

Diese beinhalten die zwei aufgeführten Relaxationen  $T_1$  und  $T_2$ . Dabei ist anzumerken, dass  $M_{x'}$  und  $M_{y'}$  für rotierende Koordinatensysteme gelten. Aufgrund der Komplexität wird auf eine genauere Beschreibung verzichtet.

Nimmt man jetzt die dipolare Kopplung und die aufgeführten Relaxationen zusammen kann dies zur Strukturaufklärung verwendet werden. Anwendung findet dies in der Strukturaufklärung von Biomolekülen, z.B. Proteinen, teilweise geordneten Flüssigkristallen und Polymeren Netzwerken. Um die experimentelle Vorgehensweise, Messdaten und die Auswertung an Netzwerken zu veranschaulichen, ist zunächst eine Simplifizierung auf ein dipolar koppelndes Spinpaar notwendig (Abbildung 2.3. 12).



**Abbildung 2.3. 12:** Vergleich eines isolierten Spinpaars und eines Netzwerks. Herausgenommen wurden dabei das Spektrum in der Frequenzdomäne, das FID und Hahn Echo (HE) in der Zeitdomäne vor der Fourier Transformation (FT) und ein multiquanten Experiment (MQ). Dargestellt sind idealisierte Kurvenverläufe ohne Relaxation. In Anlehnung an Saalwächter.<sup>184</sup>

In einem dazugehörigen Spektrum ist ein verdoppelter Peak mit Verbreiterung zu erkennen. Dies wird in der Domäne „Intensität“ gegen „Frequenz“ dargestellt. Gemessen wird dies jedoch in Domäne „Zeit“ gegen „Intensität“. Erst durch Fourier-Transformation (FT) kann das gebräuchlichere Spektrum erhalten werden. Als erstes Experiment wird ein freier

Induktionszerfall (FID engl. „free induced decay“) erweitert mit einem Hahn-Echo gemessen. Detaillierte Beschreibungen zu verwendeten Pulssequenzen und Auswertung sind dem Experimentalteil in Kapitel 8.3.3 zu entnehmen. Theoretisch handelt es sich beim FID um das Messsignal zur Magnetisierung, welche nach einem Anregungsimpuls gemessen werden kann. Ergänzt wird dies durch ein Hahn-Echo Experiment (teilweise auch Spin-Echo genannt). Dies dient der Bestimmung von  $T_2$ . In einem System bestehend ausschließlich aus einem dipolaren Spinpaar kann hier direkt die Information über die Struktur gewonnen werden. Im realen Netzwerk jedoch müssen aufgrund der vielen koppelnden Kerne neben der Struktur auch die Dynamik beachtet werden. Dies führt dazu, dass eine direkte Aussage über die Struktur hier nicht möglich ist.

Durch ein weiteres Experiment der Multiquanten (MQ) können die dynamischen Faktoren bestimmt und herausgerechnet und somit Informationen über die Struktur ermittelt werden.<sup>185,186</sup> Konkret handelt es sich hierbei um die Netzwerkbeschaffenheit, wie z.B. nicht-elastische Defekte und damit Netzwerkdichten. Durch die Pulssequenz kann die Doppelquanten-Aufbaukurve (DQ-Kurve) bestimmt werden. Der Anstieg beinhaltet die Aufbaukurve der Dipolkopplung und enthält damit die gewünschte Information der Struktur. Der abfallende Anteil beinhaltet Informationen zur Relaxation, welche die Ergebnisse verfälschen. Gleichzeitig wird jedoch die Relaxation durch die Referenzintensität ( $I_{ref}$ ) bestimmt. Diese kann nun aus der  $I_{DQ}$  Kurve entfernt werden (Gl. 29). Die so erhaltene Kurve normierter Intensität der DQ-Aufbaukurve ( $I_{nDQ}$ ) enthält nun die gewünschten Informationen über das Netzwerk (Gl. 30).

$$I_{\Sigma MQ} = I_{DQ} + I_{ref} - B \cdot e^{\frac{-2\tau_{DQ}}{T_{2B^*}}} \quad (29)$$

$$I_{nDQ} = \frac{I_{DQ}(\tau_{DQ})}{I_{\Sigma MQ}(\tau_{DQ})} \quad (30)$$

mit:  $I_{\Sigma MQ}$ - Intensität der Multiquanten;  $I_{DQ}$  – Intensität des Doppelquantenaufbaus;  $I_{ref}$  – Referenzintensität.

Dabei ist zu beachten, dass das Maximum dieser Kurve bei 0,5 liegen muss. Das ist mit Hilfe der Pulssequenz zu erklären. Diese spaltet das zu messende Ergebnis in eine z-Magnetisierung und die gewünschte Aufbaukurve. Beide fließen zu gleichen Anteilen in die Berechnung ein, weshalb beide Abteile nicht größer als 0,5 werden können. In einigen Fällen ist ein leichtes überschwingen zu beobachten. Im Anstieg der korrigierten Kurve steckt nun die residuale dipolare Kopplungskonstante  $D_{res}$  (Gl. 31-33). Die Gleichung 31 ist dabei nur bei homogenen Elastomeren anzuwenden.<sup>187</sup> Zur Bestimmung der Inhomogenität und damit der

Verteilung  $P(D_{res})$  ist die Verwendung von Gleichung 32 erforderlich. Gleichung 33 beschreibt dann den Zusammenhang von  $P(D_{res})$  und  $I_{nDQ}$ .

$$I_{nDQ}(\tau_{DQ}, D_{res}) = 0,5 \left( 1 - \exp \left\{ - (0,378 D_{res} \tau_{DQ})^{1.5} \right\} \cos \{ 0,583 D_{res} \tau_{DQ} \} \right) \quad (31)$$

$$P(\ln(D_{res})) = \frac{1}{\sigma_{\ln} \sqrt{2\pi}} \exp \left\{ - \frac{(\ln(D_{res}) - \ln(D_{med}))^2}{2\sigma_{\ln}^2} \right\} \quad (32)$$

$$I_{nDQ}(\tau_{DQ}) = \int P(\ln(D_{res})) I_{nDQ}(\tau_{DQ}, D_{res}) d\ln(D_{res}) \quad (33)$$

mit:  $P(D_{res})$ - Verteilung von  $D_{res}$ ;  $\sigma_{\ln}$  – Standardabweichung;  $D_{med}$  – mittlere  $D_{res}$ .

$D_{res}$  ist direkt proportional zu Netzwerkbeschaffenheit und dem Ordnungsparameter  $S_b$ . Dieser setzt sich aus den Angaben bezüglich Anzahl der Kettensegmente  $N$  und deren Längen  $R$  und  $R_0$  zusammen (Gl. 34).<sup>188,189</sup>

$$D_{res} \propto \left( \frac{1}{N} \right) \left( \frac{R^2}{R_0^2} \right) \quad (34)$$

mit:  $N$  - Anzahl der Kettensegmente;  $R$  – Ende bis Ende Abstand;  $R_0$  - Ende zu Ende Abstand der Kette im Gleichgewicht.

### **Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS)**<sup>57,190–192</sup>

Bei der Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS) wird die Intensität von Röntgenstrahlung in Abhängigkeit vom sehr kleinen Streuwinkel (i.d.R. 0,1-5) ausgenutzt um generell mittlere Partikelgrößen im Bereich von 1-100 nm und dessen Formen zu bestimmen. Auch Informationen bezüglich der Packung von Partikeln können erhalten werden.

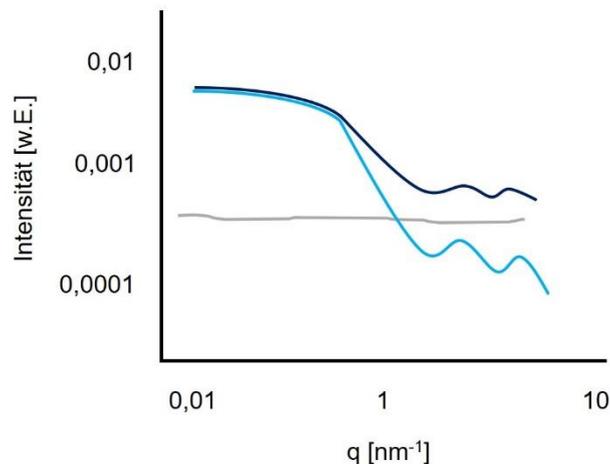
Bei dieser Methode macht man sich Streuphänomene der Photonen an einer Oberfläche zu nutze. Wie auch schon bei der DLS (vgl. Kapitel 2.3.3) beschrieben wird dazu die elastische Streuung ( $\triangleq$  ohne Energieverlust) verwendet. Unterschieden wird hierbei je nach verwendeter Strahlungsquelle in Rayleigh-Streuung (sichtbares Licht) oder Thomson-Streuung (Röntgen- oder Neutronenstrahlen). Die inelastische Compton-Streuung, bei der sich die Wellenlänge durch die Streuung am Teilchen ändert ( $\triangleq$  Energieverlust), tritt nur als Hintergrundstreuung auf. Apparativ wird Röntgenstrahlung in einer Röntgenröhre erzeugt und über Kollimatoren und Divergenzblenden monochromatisiert und parallelisiert. Triff dieser Strahl nun auf die Probe können die beschriebenen Streuphänomene beobachtet werden. Entscheidend sind dabei Elektronendichteunterschiede in der Probe. Daher werden häufig zweiphasige Systeme, z.B. Dispersionsmittel und Partikel, untersucht. Tatsächlich gemessen wird dann die Intensität der Streustrahlung in Abhängigkeit vom Streuwinkel durch einen 2D-Flächendetektor. Die Intensität korreliert mit der Anzahl an Photonen, welche beim Detektor ankommen. Interferenzmuster entstehen durch konstruktive (hohe Intensität  $\triangleq$  helle Bereiche)

bzw. destruktive (geringe Intensität  $\hat{=}$  dunkle Bereiche) Interferenz. Um die Intensität der gestreuten Röntgenstrahlung unabhängig von der Wellenlänge darstellen zu können wird der Parameter  $q$ , die Länge des Streuvektors, verwendet (Gl. 35).

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \cdot \sin(\phi) \quad (35)$$

mit:  $q$  – Streuvektor;  $\lambda$  – Wellenlänge;  $\phi$  – Streuwinkel.

Eine schematische Darstellung einer solchen typischen Messung von  $q$  ist in der nachfolgenden Abbildung 2.3. 13 dargestellt.



**Abbildung 2.3. 13:** Schematische Darstellung eines typischen SAXS Profils in Anlehnung an Schnablegger et al.<sup>190</sup>. Dunkelblau – Partikeldispersion; grau – Lösungsmittel; hellblau – Profil der Differenz.

Vorteile dieser Methode sind der geringe Aufwand der Probenpräparation, quasi keine Grenzen bei der Probenwahl und die zerstörungsfreie Messung. Demgegenüber steht die aufwendige Auswertung der Daten als Nachteil. Prinzipiell können mit den Messdaten Aussagen über Form, Größe/Größenverteilung und Packung getroffen werden. Jedem Parameter liegt eine andere Theorie zur Auswertung zu Grunde. Daher ist eine Auswertung bezüglich einer gewählten Größe nur bei bekannten zwei Konstanten möglich. Eine simultane Bestimmung ist daher ausgeschlossen.

Zur anschließenden Auswertung der Daten bezüglich der Charakterisierung von Netzwerken sollen nun einige Grundlagen aufgeführt werden. Wie oben beschrieben muss zunächst gewährleistet sein, dass die Elektronendichte des Netzwerks im Vergleich zum umgebenen Wasser ausreichend ist. Ist dies erfüllt, können eine Reihe an Theorien zur Auswertung herangezogen werden.

Zur Analytik von Inhomogenitäten in Feststoffen, in diesem Fall die Maschen eines Netzwerks, stehen einige Modelle und Gleichungen zur Verfügung. Einen Grundstein legte dabei die Forschungsarbeit von P. Debye und A. M. Bueche.<sup>193</sup> Darin wird die Inhomogenität in Feststoffen (hier: Lucite Poly(methylmethacrylat)) durch Fluktuationen vom Brechungsindex

(oder Dielektrizitätskonstante) für sichtbares Licht bzw. der Elektronendichte bei Röntgenstrahlung beschrieben. Zentraler Bestandteil dieser Betrachtung ist die Auswirkung auf die Intensität und die Winkelverteilung von Streulicht. Diese Grundlagen wurden im Modell Debye-Anderson-Brumberger (DAB) für beliebige Zweiphasensysteme aufgegriffen und weiterentwickelt.<sup>194</sup> Zusammengefasst wurden hier mathematische Formulierungen für diese Inhomogenität erarbeitet. Zur Entwicklung des Modells wurde diese Inhomogenität als Hohlräume mit einer Elektronendichte von Null in einem homogenen Material mit einer Elektronendichte Eins aufgefasst. Details der Entwicklung des DAB-Modells sind der dazugehörigen Literatur zu entnehmen.<sup>194</sup> An dieser Stelle sei nur auf die grundlegende Beschreibung der Streuintensität hingewiesen (Gl. 36).

$$i = \frac{A}{(1+(k^2 \cdot \theta^2 \cdot a^2)^2)} \quad (36)$$

mit:  $i$  – Intensität der Streustrahlung;  $A$  – Konstante ( $A = 8\pi a^3 \langle \eta^2 \rangle_{Av} V$ );  $a$  – Korrelationslänge;  $\langle \eta \rangle_{Av}$  – mittlere Elektronendichte;  $V$  – Volumen;  $k = 2\pi/\lambda$ ;  $\theta$  – Streuwinkel.

Anmerkung: An dieser Stelle wurde die Notation der Originalliteratur verwendet. Es existiert eine Vielzahl weiterer Umschreibungen.

Über eine Auftragung der Streuintensität  $i^{-\frac{1}{2}}$  gegen  $\theta^2$  kann dann über das Verhältnis von Steigung zum Achsenabschnitt die Länge (heute: Korrelationslänge  $\xi$ ) gemäß der nachfolgenden Gleichung 37 bestimmt werden.

$$a = \frac{\lambda}{2\pi} \left( \frac{\text{Steigung}}{\text{Achsenabschnitt}} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (37)$$

Der Vollständigkeit halber sei darauf hingewiesen, dass nicht in allen Fällen eine Gerade erhalten wird. Dies wird begründet mit zwei unterschiedlichen Längen im betrachteten Material. Daher kann eine erweiterte Funktion des DAB-Modells beschrieben werden (Gl. 38).

$$i = \frac{A_1}{(1+(k^2 \cdot \theta^2 \cdot a_1^2)^2)} + A_2 \exp\left(-\frac{k^2 \cdot \theta^2 \cdot a_2^2}{4}\right) \quad (38)$$

Die so erhaltenen Korrelationslängen  $a$  (heute:  $\xi$ ) quantifizieren also den mittleren Abstand zwischen einer Phase 1 und 2. Bezogen auf die analysierten Netzwerke ist damit also der Abstand innerhalb des Netzwerks, also die Maschen, gemeint. Das allgemein verfasste DAB-Modell wurde für Gele spezifiziert. Als Grundlage hierfür dient die Ornstein-Zernike Beziehung (OZ), welche in der Theorie von Fluiden Anwendung findet.<sup>195</sup> Über Integrale werden hier Korrelationsfunktionen beschrieben, die die Verteilung von Molekülen in Raum und Zeit angibt. Zentraler Bestandteil dieser Beziehung ist die Aufteilung in direkte und indirekte Korrelation

zwischen zwei Molekülen. Dies wurde zunächst für Polymerketten in Lösung aufgegriffen und in Form einer Lorenzfunktion ausgedrückt (Gl. 39).

$$I(q) = \frac{I_0}{1+q^2\xi^2} \quad (39)$$

mit:  $I(q)$  – Intensität der Streustrahlung in Abhängigkeit von der Länge des Streuvektors;  $I_0$  – Intensität bei  $I(q) = 0$ ;  $q$  - Länge des Streuvektors;  $\xi$  – Korrelationslänge.

Dabei ist anzumerken, dass diese Beziehung nur bei  $\xi q < 1$  gilt. Für Produktwerte  $> 1$  sind Abwandlungen je nach Güte des Lösungsmittels zu verwenden (Gl. 40).

$$I(q) = (\xi q)^x \quad (40)$$

$$x = -5/3 \text{ (gute Lösungsmittel); } x = -2 \text{ (schlechte Lösungsmittel)}$$

In einem Netzwerk kommen nun aufgrund der Knotenpunkte Verbindungen zwischen einzelnen Polymerketten zustande. Dies beeinträchtigt die Fluktuation der Konzentration, weshalb weitere Anpassungen erforderlich sind. Hierzu existiert eine Reihe von weiterentwickelten Modellen. An dieser Stelle sei bspw. auf die Arbeiten von Hecht *et al.*<sup>196</sup> und Horkay *et al.*<sup>197</sup> verwiesen. Gemein haben diese eine Aufteilung der Streuintensität  $I(q)$  in zwei Teilintensitäten. Diese beschreiben zum einen die Fluktuation der Konzentration im feststoffähnlichen Anteil und zum anderen den flüssigkeitsähnlichen Anteil im Netzwerk. Für diese Arbeit ist nun eine generalisierte Ornstein-Zernike Gleichung (Gl. 41) von Bedeutung.<sup>80,198</sup>

$$I(q) = \frac{I_{gOZ}}{\left[1 + \frac{(D+1)(\xi q)^2}{3}\right]^{\frac{D}{2}}} \quad (41)$$

mit:  $I_{gOZ}$  – asymptotische Wert von  $I(q)$  bei  $q = 0$ ;  $D$  – „openess or compactness“ der Maschen.

In diesem Fall wird ein Parameter  $D$  „openess or compactness“ eingeführt, um diesem zweikomponentigen Verhalten gerecht zu werden. Shibayama *et al.* beschreibt hier ein Gel über nicht korrelierende Cluster der Größe  $\xi$ , in denen die Polymerketten mit einer fraktalen Dimension  $D$  miteinander korrelieren.<sup>199</sup>

## 2.3.4 Analytik zur Modifikation von Calciumphosphat

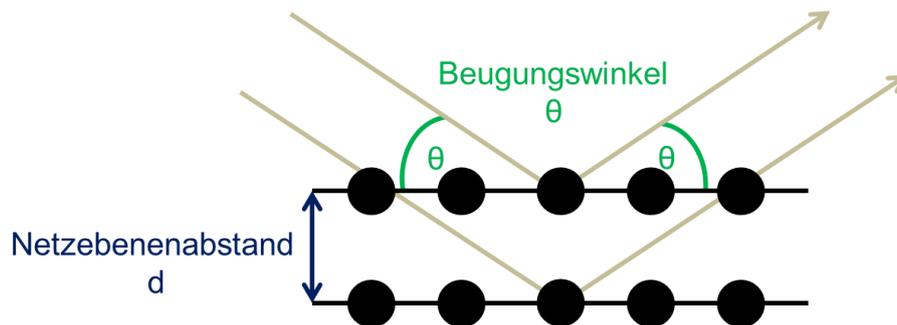
### Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD)

Zur Analyse und Identifikation von kristallinen Stoffen werden Beugungsmethoden verwendet. Grundprinzip ist hier die Beugung von elektromagnetischer Strahlung an der Kristallstruktur, genauer gesagt der Elektronenhülle. Diese Reflexion erfolgt unter bestimmten diskreten Winkeln und kann mit Hilfe der Bragg'schen Gleichung beschrieben werden (Gl. 42).

$$n \cdot \lambda = 2d \cdot \sin\theta \quad (42)$$

mit:  $n$  – Ordnung der Beugung (ganzzahlig);  $\lambda$  – Wellenlänge (hier Röntgenstrahlung der Röntgenquelle: Mo, Cu oder Fe);  $d$  – Netzebenenabstand;  $\theta$  – Beugungswinkel.

Ist diese Bedingung erfüllt kommt es zu einer konstruktiven Interferenz. Dabei gilt außerdem das Kriterium „Einfallswinkel gleich Ausfallswinkel“. Die einzelnen Parameter Netzebenenabstand ( $d$ ) und Beugungswinkel ( $\theta$ ) werden in der nachfolgenden schematischen Darstellung visualisiert.



**Abbildung 2.3. 14:** Schematische Darstellung zur Bragg'schen Reflexion in Anlehnung an Epple.<sup>86</sup>

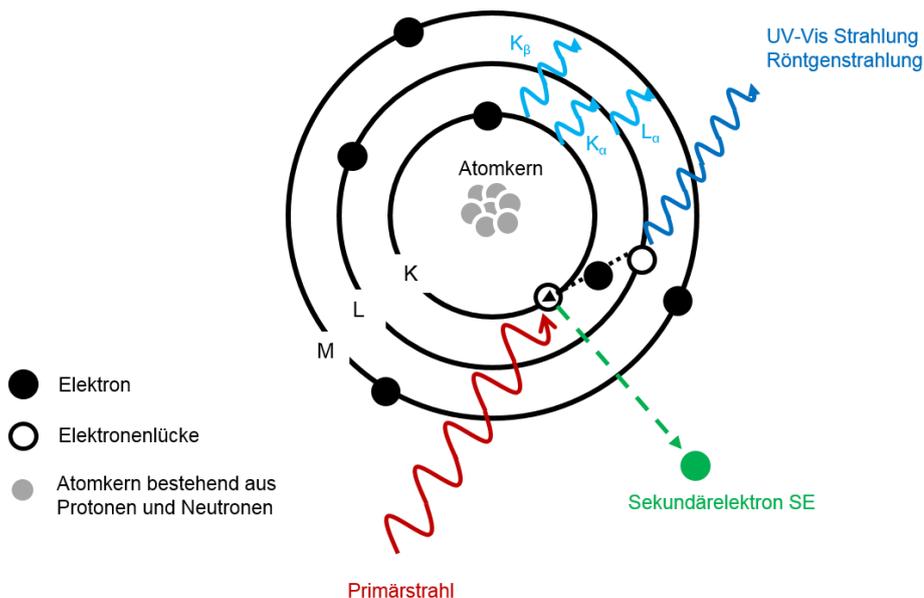
Dieses Prinzip wird von der Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD) angewandt. Man erhält als Ergebnis durch die Auftragung der relativen Intensität gegen den doppelten Beugungswinkel ( $2\theta$ ) ein Pulverdiffraktogramm. Dabei sind die relative Reflexhöhe und die Lage der Reflexe charakteristisch für eine Substanz. Es muss beachtet werden, dass die Reflexhöhe zum Teil variabel ist. Die Lage jedoch ist nur von der verwendeten Wellenlänge des Röntgenstrahls abhängig. Aus einem solchen Diffraktogramm können mehrere Informationen erhalten werden. Dazu gehören die Millerschen Indizes ( $hkl$ ), welche für die eindeutige Bezeichnung der Kristallflächen bzw. Ebenen im Kristallgitter verwendet werden. Diese können direkt über die Bragg'sche Gleichung berechnet werden. Außerdem ist eine Abschätzung der Kristallitgröße möglich. Als Tendenz kann allgemein formuliert werden, dass je breiter der Reflex ist, desto größer der Kristallit. Dazu wird die folgende Scherrer-Gleichung verwendet (Gl. 43).

$$D_{hkl} = \frac{K \cdot \lambda}{\beta_{hkl} \cdot \cos(\theta)} \quad (43)$$

mit:  $D_{hkl}$  – angenäherte Kristallitgröße [Å];  $K$  – Scherrer-Formfaktor;  $\lambda$  – Wellenlänge der Röntgenstrahlung [Å];  $\beta_{hkl}$  – volle Halbwertsbreite des Reflexes;  $\theta$  – Beugungswinkel.

### Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDXS)<sup>200</sup>

Bei der energiedispersiven Röntgenspektroskopie (EDXS) wird eine Probe einem Elektronenstrahl ausgesetzt. Wechselwirkungen von Elektronenstrahl mit den einzelnen Atomen erzeugen elementspezifische Röntgenstrahlen, welche emittiert und detektiert werden können. Diese Erzeugung von Röntgenemission ist vereinfacht in Abbildung 2.3. 15 dargestellt. Der eingehende Primärstrahl (rot) überträgt Energie auf ein Elektron auf einer inneren Atomschale und wird dadurch „herausgeschlagen“. Elektronen aus höheren Schalen füllen nun die innere Schale wieder auf. Triebkraft hierbei ist die Instabilität des Zustandes. In Abhängigkeit vom Energieniveau des „zurückfallenden“ Elektrons wird die überschüssige Energie in Form von Röntgenstrahlung ( $K_{\alpha}$ ,  $K_{\beta}$  und  $L_{\alpha}$ ) abgegeben.



**Abbildung 2.3. 15:** Vereinfachte Darstellung der Wechselwirkung vom Primärstrahl (rot) mit einem Atom und die schematische Erklärung zur Erzeugung von Röntgenstrahlen in Anlehnung an Szeifert.<sup>171</sup>

Das daraus enthaltene EDX-Spektrum enthält Röntgenlinien mit unterschiedlichen Intensitäten, die zur Auswertung herangezogen werden können. Die Lage der Peaks ist der Energie (in Elektronenvolt eV) des ausgesendeten Röntgenquants zugeordnet und kann damit zur Identifizierung des Elements verwendet werden. Die Intensität des Peaks ist umso größer, je mehr Röntgenquanten dieser Energie ausgesendet werden und damit proportional zur Menge des jeweiligen Elementes. Es ist jedoch zum einen anzumerken, dass Peaks geringer Intensität im kontinuierlichen Spektrum der Röntgenbremsstrahlung untergehen können. Zum

anderen ist eine Überlagerung von mehreren Peaks, z.B. Pd und Au, zu beobachten. Somit ist eine Auswertung ohne vorherige Kenntnis über die Probenzusammensetzung erschwert. Weitere Nachteile sind beispielsweise die geringe Nachweisgrenze von Elementen geringer Ordnungszahl und die Verbreiterung der Linien aufgrund der Detektoreigenschaften. Aufgrund der benötigten Elektronenstrahlquelle findet häufig eine Kopplung von Elektronenmikroskopen und dem EDXS Anwendung. Für diese Arbeit ist dabei die Kopplung von REM und EDXS entscheidend. Verwendung findet diese Methode somit zur gleichzeitigen bildgebenden und elementaren Analyse von Feststoffen. In diesem vorliegenden Fall zur Bestimmung der Calciumphosphat Phase bei simultaner Bestimmung der Morphologie. Vorteilhaft ist folglich die punktgenaue oder wahlweise auch flächige Zuordnung eines definierten Probenbereichs zu einem Element oder einer Verbindung.

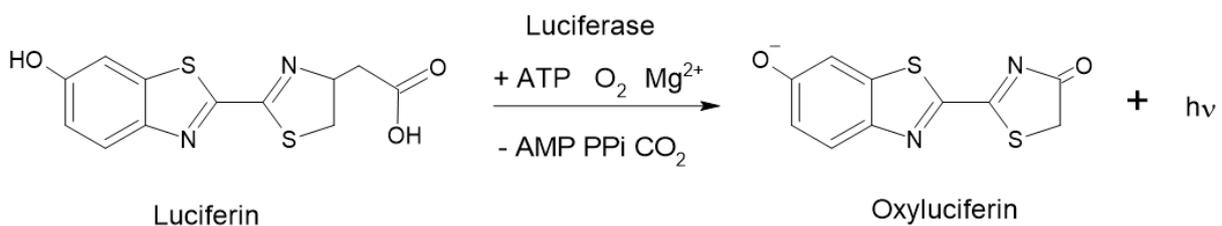
### **2.3.5 Biologische Untersuchungsmethoden**

Zur Evaluation der Wechselwirkung von verschiedenen Materialien mit einem biologischen System ist eine Vielzahl von Experimenten für verschiedenste Zelltypen bekannt. Diese werden unter anderem durch die DIN EN ISO 10993 Normreihe geregelt. Dabei wird die Biokompatibilität, also die Verträglichkeit des Materials, in drei Grundtypen unterschieden. Bioinerte Systeme, z.B. Aluminiumoxid, gehen dabei keinerlei Wechselwirkungen mit dem biologischen System ein.<sup>201</sup> Biotolerante Systeme hingegen, z.B. Knochenzement auf Polymethylmethacrylat (PMMA) Basis, weisen geringe Wechselwirkungen auf. Beispielsweise ist hier die Ausbildung von Bindegewebskapseln beschrieben. Weisen Materialien einen direkten zumeist positiven Einfluss auf das Gewebe auf, werden sie als biokonduktiv oder bioaktiv bezeichnet. In vielen Fällen wird das Material dazu verwendet entweder den Körper direkt zur Ausbildung von neuem Gewebe etc. anzuregen oder Zellen als Ankerpunkte zur Adhärenz zu dienen. Prominentester Vertreter dieser Gruppe ist das Hydroxylapatit beispielsweise als Beschichtung auf Implantaten.

Um also die Zytotoxizität, die Fähigkeit des Materials biologische Systeme zu schädigen, evaluieren zu können gibt es sowohl indirekte als auch direkte Methoden, welche Norm ISO 10993-5 zu entnehmen sind. Als Indikator dienen jedoch Zellmorphologie (z.B. Größe, Form), Zelltod (Nekrose und Apoptose) und die Zellvermehrung (Zellmetabolismus). Bei der indirekten Methode wird das zu untersuchende Material zunächst mit Zellmedium inkubiert und lediglich die Extrakte mit den Zellen in Verbindung gebracht. Ausschließlich bei direkten Methoden wird ein Kontakt vom Material mit der Zelle hergestellt. Nachfolgend sind einige spezifische Testmethoden zusammengefasst.

### „ATP-Assay“<sup>202</sup>

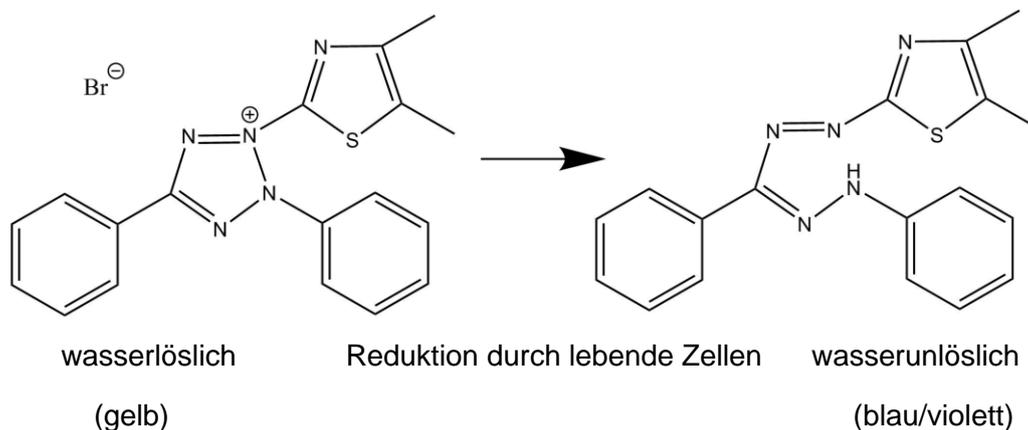
Zur Ermittlung der Zellviabilität eignen sich Methoden zur indirekten Bestimmung von Adenosintriphosphat (ATP). Eine lebensfähige Zelle metabolisiert ATP. Grundprinzip hier ist die Umsetzung mit Luciferin, einem Naturstoff zur Erzeugung von Biolumineszenz. Luciferin reagiert mit ATP und dem Enzym Luciferase zu einem Luciferyladenylat und einem Pyrophosphat. Unter Zusatz von O<sub>2</sub> und einer Decarboxylierung wird das Oxyluciferin in einem energetisch angeregten Zustand gebildet. Die Rückkehr in den energetischen Grundzustand ist dann durch Emission im Bereich 550-570 nm (gelblich-grün) möglich, welches zur Quantifizierung und damit zur indirekten Bestimmung des ATPs verwendet wird.



**Abbildung 2.3. 16:** Vereinfachtes Reaktionsschema des ATP-Tests in Anlehnung an Zemmouche et al.<sup>203</sup>

### MTT- und WST- Test

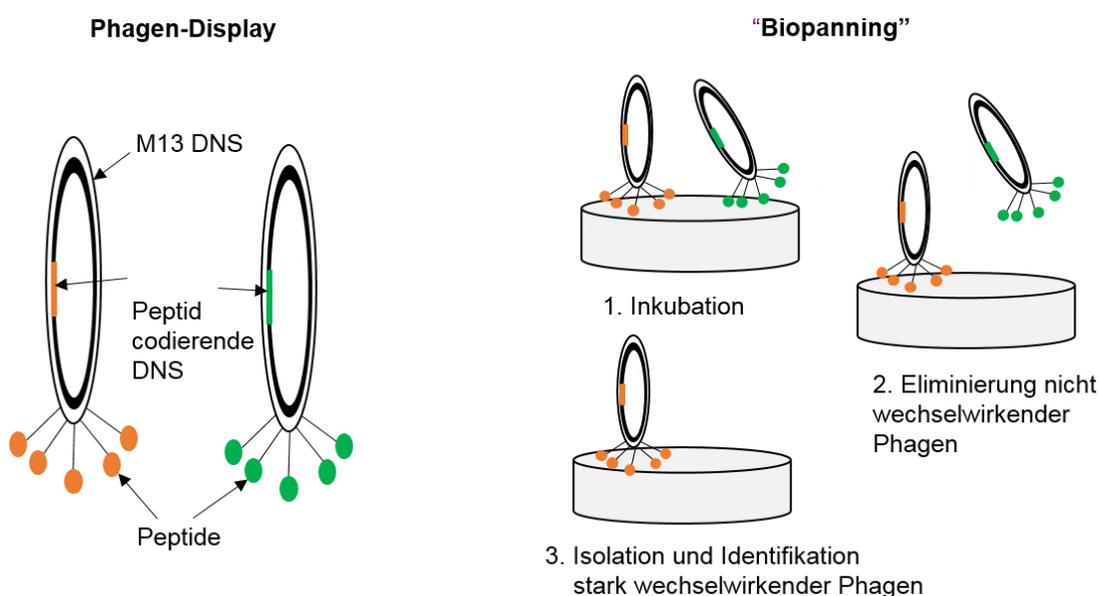
Weitere Möglichkeiten die Zellviabilität *in vitro* bestimmen zu können sind der MTT<sup>204,205</sup> - und WST<sup>206</sup>-Test. Die Name beruhen auf dem verwendeten Farbstoff MTT oder auch 3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazoliumbromid bzw. auf dem wasserlöslichen Tetrazoliumsalz (engl. „*water soluble tetrazolium salt*“ WST) 2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium. Dieser Farbstoff kann von lebenden Zellen aufgenommen werden. Als Gründe wurde hierzu die positive Ladung und der lipophile Charakter dieser Tetrazoliumsalze beschrieben. In lebenden Zellen wird dieses gelbe und wasserlösliche Salz dann zu einem wasserunlöslichen blauen Formazan-Derivat reduziert. (Abbildung 2.3. 17) Zunächst wurde von Berridge *et al.* eine enzymatische Reduktion in den Mitochondrien beschrieben.<sup>207</sup> Dies wurde jedoch durch weitere Studien von Berridge *et al.* spezifiziert.<sup>208</sup> Demnach erfolgt die Reduktion hauptsächlich durch das Coenzym Nicotinamidadenindinukleotidphosphat NAD(P) H und Enzyme der Glykolyse aus dem Endoplasmatischen Retikulum. Grundlegend bleibt jedoch die Reduktion zum Formazan-Derivat durch verschiedene Elektronentransferreaktionen. Dieses kann dann spektroskopisch quantifiziert werden. Als Vorteile dieser Methode sind der geringe und wenig zeitintensive Arbeitsaufwand zu nennen. Außerdem kann dieser Test semiautomatisiert durchgeführt werden.



**Abbildung 2.3. 17:** Vereinfachtes Reaktionsschema der Umwandlung vom wasserlöslichen WST zur wasserunlöslichen Form des Formazans.

### Phagen-Display und „Biopanning“

Zur Evaluation der Wechselwirkung von Peptiden mit verschiedensten Oberflächen kann das Phagen-Display verwendet werden. Den Grundstein für diese biotechnologische Methode legte G. P. Smith 1985.<sup>209</sup> Darin wird das Einfügen von fremden DNS-Fragmenten in einen Bakteriophagen (kurz: Phage) beschrieben. Dadurch exprimiert der Phage die neue DNS-Information auf der Oberfläche. Schematisch ist dies in der nachfolgenden Abbildung 2.3. 18 links gezeigt. Codiert dieses Fragment ein Peptid, kann dies zur oben beschriebenen Oberflächenanalytik verwendet werden. In dem nachfolgenden Schritt des „Biopanning“ (Abbildung 2.3. 18 rechts) werden diese genveränderten Phagen auf ein Material gegeben. Nach erfolgter Inkubationszeit werden nicht wechselwirkende Phagen von der Oberfläche entfernt. Die stark wechselwirkenden Phagen können dann isoliert werden. Anschließend erfolgt die Identifikation der Peptidsequenz.



**Abbildung 2.3. 18:** Schematische Darstellung des Phagen Displays und dem „Biopanning“ in Anlehnung an Lemloh et al.<sup>210</sup>

### **Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (Fluoreszenzmikroskopie)**

Für die bildgebende Analytik im biologischen Bereich wird die Fluoreszenzmikroskopie verwendet. Um die Entstehung der genutzten Fluoreszenz erklären zu können, ist die Verwendung eines Jabłoński-Diagrammes notwendig. Darin werden die energetischen Übergänge von Valenzelektronen durch Absorption von Licht zusammengefasst. In erster Näherung kann von einem System mit zwei unterschiedlichen Energieniveaus ( $E_1$  und  $E_2$ ) ausgegangen werden. Durch Energiezufuhr kann ein Übergang zwischen den Energieniveaus erfolgen. Dies tritt nur bei Erfüllung der Resonanzbedingung ein, welche besagt, dass die externe Energie genau der Energiedifferenz ( $\Delta E$ ) der beiden Energieniveaus beträgt (Gl. 44).

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h \cdot \nu = h \cdot c \cdot \lambda \quad (44)$$

mit:  $h$  - Planck'sches Wirkungsquantum;  $\nu$  - Frequenz der Strahlung;  $c$  - Lichtgeschwindigkeit;  $\lambda$  - Wellenlänge.

Im Jabłoński-Diagrammes werden nun viele unterschiedliche Energieniveaus betrachtet. Die Anregung erfolgt gemäß Resonanzbedingung durch ein externes Photon, wodurch ein Übergang vom Grundzustand in den angeregten Zustand  $S_n$  erfolgt. Durch anschließende Folgeprozesse kann dieser Zustand wieder verlassen werden. Dazu gehören die Innere Konversion, bei der ein nichtstrahlender horizontaler Übergang zwischen zwei elektronischen Zuständen gleicher Spinmultiplizität erfolgt. Bei der Inneren Relaxation wird die überschüssige Energie durch Stöße in Form von Vibrationsenergie abgegeben. Somit handelt es sich hierbei um einen vertikalen Übergang zum niedrigsten Schwingungszustand eines elektronisch angeregten Zustands. Dem kann sich ein strahlender Übergang vom schwingungsrelaxierten angeregten Zustand in den Grundzustand anschließen. Dies wird als Fluoreszenz bezeichnet. Der Vollständigkeit halber sei hier noch das Intersystem Crossing, einem nichtstrahlenden horizontalen Übergang zwischen zwei energetisch gleichen Schwingungsniveaus unterschiedlicher Spinmultiplizität (Bsp.  $S_1$  nach  $T_1$ ), und der sich anschließenden Phosphoreszenz, einem strahlenden Übergang von  $T_1$  nach  $S_0$ , genannt.

Um also eine Fluoreszenz erzeugen zu können, werden den biologischen Proben Fluoreszenzfarbstoffe (Fluorochrome) zugesetzt. Diese werden nach dem oben beschriebenen Prinzip mittels Laser, einer monochromatischen und kohärenten elektromagnetischen Strahlung, angeregt. Vorteil durch Benutzung eines Lasers ist die punktförmige Fokussierung und damit das Abrastern einer Probe. Der Laserstrahl wird durch einen Strahlenteiler zur Probe geführt. Durch einen dichroitischen Spiegel wird die entstehende Fluoreszenz vom Anregungslicht getrennt. Alle weiteren Aspekte sind analog zum Lichtmikroskop zu sehen, in dem das Objektiv Bildpunkte projiziert.

### 3. Publikationen

Diesem Kapitel schließen sich die Forschungsergebnisse an. Daraus sind Artikel in Journalen entstanden. Eine Zusammenfassung aller Artikel, inklusive Verweise auf Teilkapitel dieser Dissertation, entsprechende Tagungsbeiträge und sowohl interne als auch externe Bachelorarbeiten sind in diesem Kapitel gezeigt.

#### Schriftlich

1. **Ihlenburg, R.B.J.**; Mai, T.; Thünemann, A.F.; Baerenwald, R.; Saalwächter, K.; Koetz, J.; Taubert, A. Sulfobetaine hydrogels with complex multi-length scale hierarchical structure. *J. Phys. Chem. B* **2021**, 125, 13, 3398–3408.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c10601>. (vgl. Kapitel 4.1.4)
2. **Ihlenburg, R.B.J.**; Lehnen, A.-C.; Koetz, J.; Taubert, A. Sulfobetaine Cryogels for Preferential Adsorption of Methyl Orange from Mixed Dye Solutions. *Polymers* **2021**, 13, 208. <https://doi.org/10.3390/polym13020208>. (vgl. Kapitel 4.4.1)
3. In Arbeit: Charakterisierung der Gelierung mittels DLS und SAXS (vgl. Kapitel 4.1.1)
4. Akzeptiert: **Ramona B. J. Ihlenburg**, David Petracek, Paul Schrank, Mehdi D. Davari, Andreas Taubert and Dirk Rothenstein, Identification of the first sulfobetaine hydrogel-binding peptides via phage display assay, *Macromolecular Rapid Communications*, **2023**, 202200896 DOI: <https://doi.org/10.1002/marc.202200896> (vgl. Kapitel 4.3.3)

#### Tagungen

- |                    |  |
|--------------------|--|
| 19. April 2017     | GDCH und JCF, 1. Potsdamer Doktorandensymposium der Chemie, Potsdam, Germany – <b>Vortrag</b>  |
| 27 – 30 Juni 2017  | NanoBioMater 2017, International Conference and Summer School, Bad Herrenalb, Germany – <b>Postervortrag und Poster</b>                  |
| 05. Juli 2017      | 30. Tag der Chemie, Berlin, Germany – <b>Poster</b>  |
| 19 – 22 März 2018  | 4th Euro Bioinspired Materials 2018, International School and Conference on Biological Material Science Potsdam, Germany – <b>Poster</b> |
| 08. – 09. Mai 2019 | 5th Euro BioMAT 2019, European Symposium and Exhibition on Biomaterials and Related Areas, Weimar, Germany – <b>Vortrag</b>              |

Betreute Bachelorarbeiten

1. Bachelorarbeit von Anne-C. Lehnen, *Einfluss von Syntheseparametern und Zellmedien auf die Eigenschaften von Hydrogelen*, **2018**. (vgl. hpts. Kapitel 4.1 und 4.3.1)
2. Bachelorarbeit von Svenja Gerhardt, *Sulfobetain - Blockcopolymere für die Fällung von Calciumphosphat*, **2018**. (vgl. Kapitel 4.2.1)

Angelehnte Bachelorarbeiten bei Kooperationspartnern

1. Bachelorarbeit von David Petracek, *Phagen-Display auf polymeren Zielsubstrat*, **2019**. (AG Bill, Betreuung Dr. D. Rothenstein, Universität Stuttgart) (vgl. Kapitel 4.3.3)
2. Bachelorarbeit von Madleen Sabine Rietscher, *Einfluss von Kalziumphosphat-haltigen Hydrogelen auf die Differenzierung von humanen Chondrozyten und Osteosarkomzellen*, **2020**. (AG Anderer BTU Cottbus-Senftenberg) (vgl. Kapitel 4.3.7 und 4.3.8)

## 4. Ergebnisse und Diskussion

### 4.1 Gelsynthese über eine freie radikalische Polymerisation in Wasser und Strukturaufklärung im Gleichgewichtsquellzustand

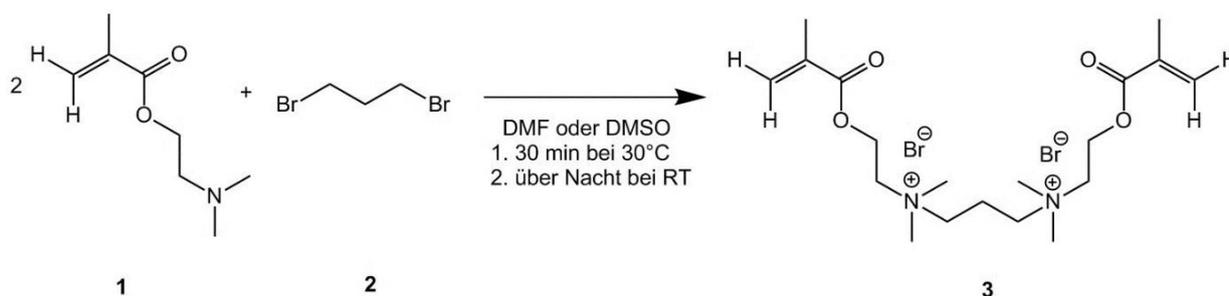
Ziel dieses Teilkapitels ist es die Synthese von Hydrogelen auf Basis von einem Sulfobetain vorzustellen. Dabei wird sowohl auf die Synthese des neuen wasserlöslichen Vernetzers TMBEMPA/Br, die Gelierung als auch das Netzwerk im Gleichgewichtsquellzustand (GG-Quellzustand) eingegangen. Neben mechanischen und thermischen Eigenschaften steht vor allem die Analytik der hierarchischen Struktur mittels Kryo-REM (neuartige „Pore in Pore Struktur“), das Streuverhalten inhomogener Netzwerke mittels SAXS und der Weiterentwicklung der Auswertefunktion mittels Niederfeld-NMR im Mittelpunkt.

#### 4.1.1 Synthese der Hydrogele

##### Synthese des Vernetzers TMBEMPA/Br

Den Beginn dieser Arbeit stellte die Synthese von Hydrogelen über eine freie radikalische Polymerisation dar. Die Synthese des Vernetzers N,N,N',N'-Tetramethyl-N,N'-bis(2-ethylmethacrylat)-propyl-1,3-diammoniumdibromid (TMBEMPA/Br) (**3**) wurde bereits in der vorangegangenen Masterarbeit beschrieben.<sup>211</sup> Daher sollen an dieser Stelle nur eine kurze Zusammenfassung und einige Ergänzungen bezüglich der Syntheseoptimierung und der Eigenschaften aufgeführt werden.

TMBEMA/Br (**3**) konnte aus dem 2-(Dimethyl-amino)ethyl-methacrylat (DMAEMA) (**1**) und 1,3-Dibrompropan (**2**) synthetisiert werden. Die allgemeine Reaktionsgleichung der einstufigen Reaktion und dessen Bedingungen sind nachfolgend gezeigt (Abbildung 4.1. 1).



**Abbildung 4.1. 1:** Synthese des Vernetzers TMBEMPA/Br.<sup>211</sup>

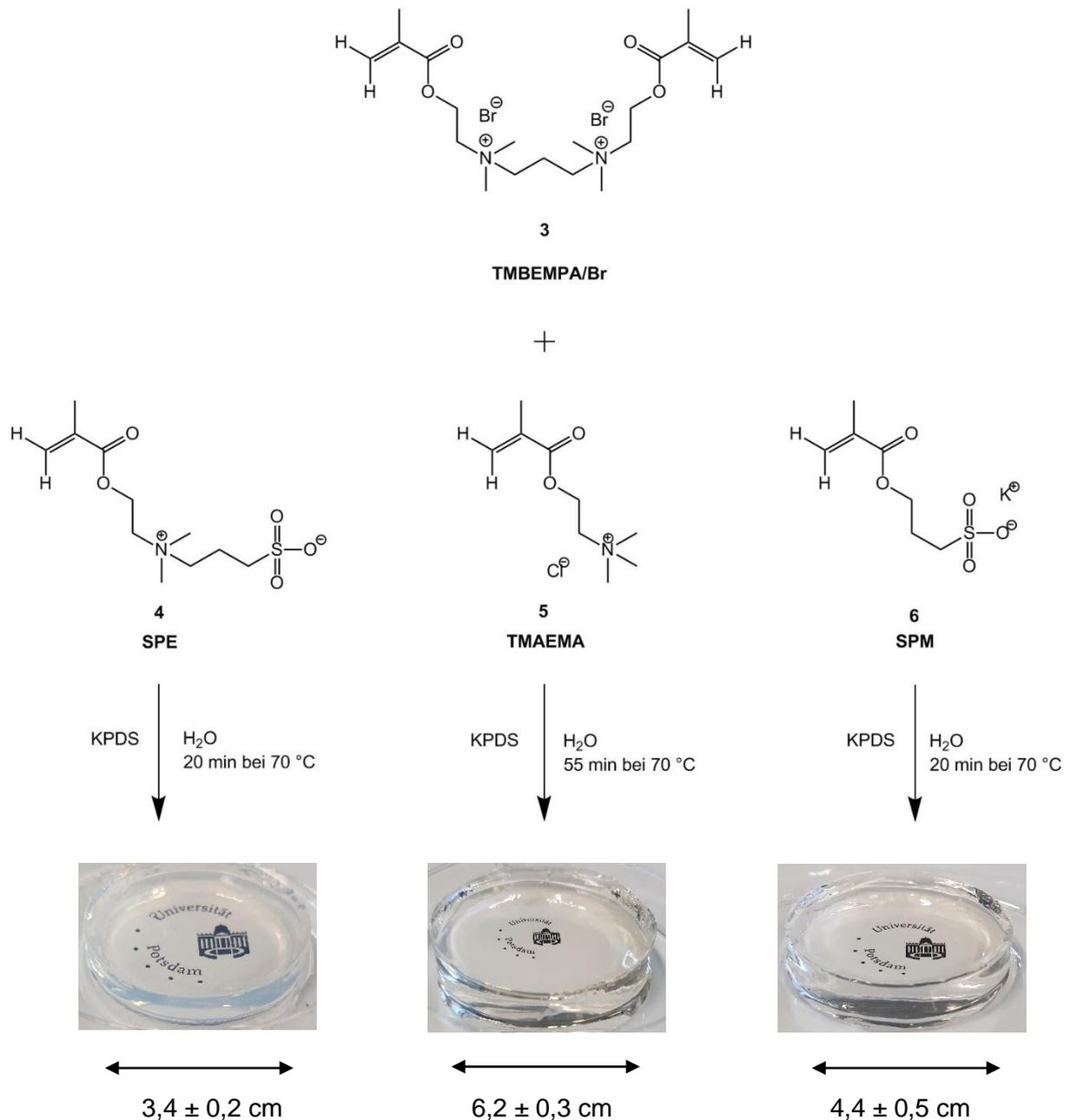
Aus der milden Reaktion bei Raumtemperatur konnte direkt ein weißer Feststoff erhalten werden. Das Rohprodukt wurde durch Waschen gereinigt. Die Ausbeute betrug zwischen 70

und 75 %. Alternativ zum Lösungsmittel Dimethylformamid (DMF) eignete sich die Verwendung von Dimethylsulfoxid (DMSO). Hier konnte eine Ausbeute von 88 % erzielt werden. Jedoch erforderte die Aufreinigung des Rohproduktes erheblich mehr Lösungsmittel. Das Produkt wurde bezüglich der Reinheit mittels Kernspinresonanzspektroskopie (NMR-Spektroskopie) analysiert. Auch hier zeigte sich, dass das Lösungsmittel nicht komplett entfernt werden konnte. Details bezüglich der strukturellen Analytik sind dem Kapitel 7.1.4 zu entnehmen. Daher dient das DMF trotz der toxischen und fortpflanzungsschädigenden Eigenschaften als favorisiertes Lösungsmittel.

TMBEMPA/Br zeigte eine gute Löslichkeit in Wasser, Methanol, Chloroform, Dimethylsulfoxid, Acetonitril und Dimethylformamid. In *n*-Hexan, Diethylether, Tetrahydrofuran, 1,4-Dioxan, Ethylacetat, Methyl-*tert*-butylether, Aceton, Dichlormethan und Toluol war diese hingegen reduziert bzw. nicht gegeben. Die Löslichkeit in Wasser sollte an dieser Stelle besonders betont werden. Mehr als 1 g/mL waren hierbei löslich. Makroskopisch war dabei keine Aggregatbildung zu beobachten. Auch bei einer Bestrahlung mit Laserlicht konnte keine Lichtstreuung festgestellt werden. Daher konnte davon ausgegangen werden, dass eine vollständige Lösung von TMBEMPA/Br und keine Dispersion o.Ä. vorlag.

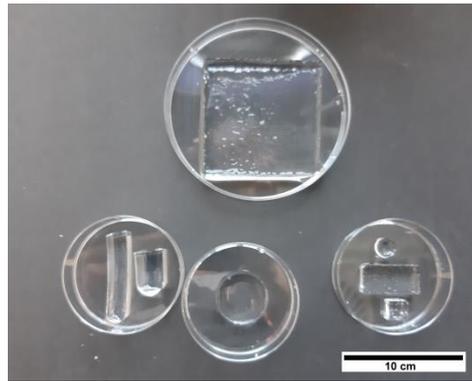
### **Allgemeines zur Synthese und Abmessung der Hydrogele**

Anschließend erfolgte die Synthese von Hydrogelen über eine thermisch initiierte freie radikalische Polymerisation in Wasser. Die Netzwerkbildung konnte sowohl über eine physikalische Vernetzung der polyelektrolytischen Monomere als auch über eine chemische Vernetzung mittels zuvor vorgestelltem TMBEMPA/Br realisiert werden. Das Grundprinzip der Synthese wurde bereits in der Masterarbeit beschrieben.<sup>211</sup> In dieser Arbeit wurden jedoch die Prototypen hinsichtlich Stabilität, Quellvermögen und mechanischer Eigenschaften weiter optimiert. Prinzipiell wurden die Monomere N-(3-Sulfopropyl)-N-methacryloyloxyethyl-N,N-dimethyl-ammonium-betain (SPE) **(4)**, oder [2-(Methacryloyloxy)ethyl]triethylammoniumchlorid (TMAEMA) **(5)** oder 3-Sulfopropylmethacrylat Kaliumsalz (SPM) **(6)** mit dem TMBEMPA/Br **(3)** umgesetzt. Dabei diente Kaliumperoxodisulfat (KPDS) als thermischer Initiator. In der nachfolgenden Abbildung 4.1. 2 ist die Synthese als Schema zusammengefasst.



**Abbildung 4.1. 2:** Übersichtsreaktionsschema für die Synthese des SPE-Gels B10; TMAEMA-Gels T10 und SPM-Gels S10 mit eigenem Foto der transparenten Hydrogele vom 09.10.2019. Bezüglich der Nomenklatur der Hydrogele ist eine detaillierte Beschreibung dem Kapitel 7.2 zu entnehmen.

Der Gelform war dabei nahezu keine Grenzen gesetzt. Lediglich die Abmessungen der Synthesecontainer waren dabei entscheidend. In der nachfolgenden Abbildung 4.1. 3 ist eine Auswahl an möglichen Formen gezeigt. Die gezeigte Formvariabilität beschränkte sich nicht nur auf die Größe und Dicke. Vielmehr waren auch eine rechteckige bzw. quaderförmige Grundform realisierbar. Bei den eckigen Grundformen ist anzumerken, dass diese im Laufe des nachfolgenden Quellprozesses bzw. durch Alterung nicht verschwand.



**Abbildung 4.1. 3:** Eigenes Foto vom 10.09.2019 bezüglich der Formvariabilität der Hydrogele. Quadratisch (oben); Zylinder (unten links); Taler (unten Mitte); Zylinder, Rechteck und Würfel (unten rechts).

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wurde sich jedoch auf die zylindrische Form mit einem Durchmesser von etwa 3,0 cm und einer Dicke von ca. 0,5 cm konzentriert. Durch Variation des Verhältnisses von Monomer zu Vernetzer in der Vorläuferlösung konnten dadurch eine Vielzahl an Hydrogelen mit unterschiedlichen mech. Eigenschaften generiert werden. Dabei ist anzumerken, dass Verhältnisse von 10:1 bis 100:1 präferiert wurden. Da sich makroskopisch die größten Differenzen zwischen den Gelen B10 und B100 ergaben, wurde lediglich die B50 als mittleres Verhältnis ausgewählt. Als Vergleichsmessungen wurden Vorläufer-Lösungen mit 100 % Vernetzer bzw. Monomer untersucht. Diese zeigten im betrachteten Zeitfenster keine Gelierung, was bestätigte, dass für die Netzbildung eine dominierende physikalische Vernetzung nicht ausreichend war. Zum weiteren Vergleich wurden die Gele S10 und T10 hergestellt. Die Synthesen von S50, S100 bzw. T50 und T100 waren ebenso möglich. Jedoch war eine starke Quellung auf bis zu 20 cm im Durchmesser zu beobachten und damit keine Formstabilität gegeben.

Die folgende gesamte Netzwerkanalytik wurde im Gleichgewichtsquellzustand durchgeführt. Darunter ist derjenige Zustand zu verstehen, in dem das Hydrogel trotz umgebendem H<sub>2</sub>O keine zusätzliche flüssige Komponente mehr aufgenommen hatte und somit keine Veränderung der Masse und Geometrie zu beobachten war. Auch die vorherige Entfernung nicht umgesetzten Monomers etc. mittels einem an einer Dialyse angelehnten Waschprozesses war dazu erforderlich. Durch Analyse des Waschwassers auf org. Rückstände konnte dies auf drei bis vier Tage Spülen mit zweimaligem Wassertausch pro Tag eingegrenzt werden. Bestätigt wurde dies durch eine Synthese der Hydrogele in Methylenblau- bzw. Methylorange-Lsg., in der die Hydrogele nach einer vergleichbaren Zeitspanne makroskopisch transparent zurückblieben.

Die makroskopische Betrachtung des Durchmessers und der Dicke zeigten eine geringe Variation zwischen den verschiedenen Geltypen der B-Reihe in einem Bereich von wenigen Zentimetern bzw. Millimetern (Tabelle 4.1. 1). Sowohl B50 als auch B100 lagen in einem größentechnischen Bereich von  $2,7 \pm 0,1$  cm und einer Dicke von 5,8 bzw.

5,5 ± 0,4 mm. Was das B10 mit 3,4 ± 0,2 cm und 7,0 ± 0,3 mm sowohl größer als auch dicker machte. Zum Vergleich wurden durch eine Monomervariation die Hydrogele S10 und T10 synthetisiert. Diese waren sowohl größer als auch dicker als die zuvor beschriebenen Gele der B-Reihe. Das S10 besaß einen Durchmesser von 4,4 ± 0,5 cm und eine Dicke von 6,9 ± 0,8 mm. Das T10 war 6,2 ± 0,3 cm groß und 9,9 ± 0,7 mm dick. Auch das Gewicht im Gleichgewichtsquellzustand variierte im Grammbereich. Hier zeigte sich bei Betrachtung der B-Reihe, dass mit zunehmendem Anteil des Vernetzers auch das Gewicht zunahm. Für die Hydrogele S10 und T10 war eine Bestimmung der Masse aufgrund eines ausgeprägten Quellvorgangs nicht uneingeschränkt möglich. Jedoch sind diese beiden Geltypen mehr als doppelt so schwer wie das B10. Zum Vergleich wurde für das S10 und T10 eine Masse von 10,45 ± 0,46 bzw. 14,56 ± 0,94 g bestimmt.

**Tabelle 4.1. 1:** Makroskopische Charakterisierung der optimierten Gele im Gleichgewichtsquellzustand über äußeres Erscheinungsbild, Durchmesser, Dicke und Gewicht.

Bezeichnung	äußeres Erscheinungsbild im Gleichgewichtsquellzustand	Durchmesser	Dicke	Gewicht
		Ø [cm]	d [mm]	m <sub>nass</sub> [g]
B10	farblos, transparent	3,4 ± 0,2	7,0 ± 0,3	4,35 ± 0,21
B50	farblos, transparent	2,7 ± 0,1	5,8 ± 0,4	3,22 ± 0,11
B100	farblos, transparent	2,7 ± 0,1	5,5 ± 0,3	2,27 ± 0,17
S10	farblos, transparent	4,4 ± 0,5	6,9 ± 0,8	10,45 ± 0,46
T10	gelblich, transparent	6,2 ± 0,3	9,9 ± 0,7	14,56 ± 0,94

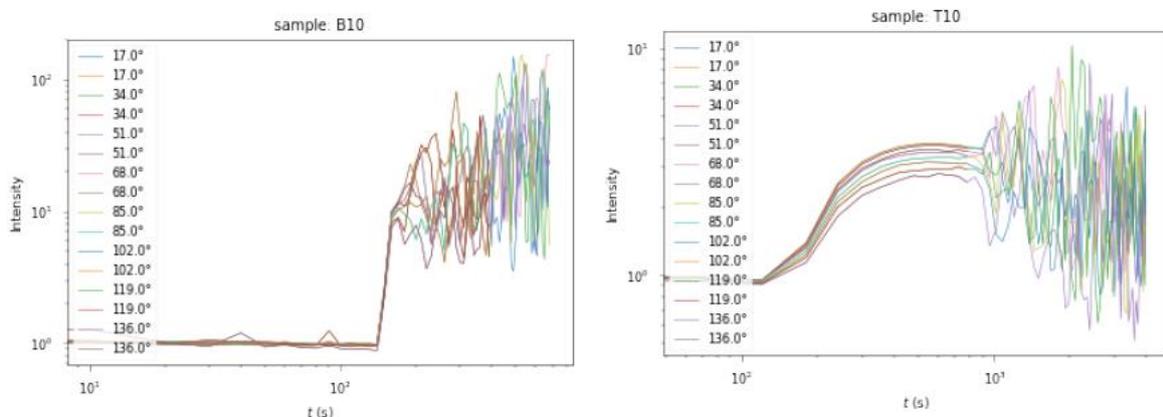
### Quantifizierung der Gelierung

Zur Abschätzung der Polymerisationsgeschwindigkeit wurden Gelpunktsbestimmungen mittels der umgekehrten Röhrchenmethode durchgeführt.<sup>212,213</sup> Dabei zeigten sowohl das Volumen, die Gelform als auch die Zusammensetzung der Vorläuferlösungen keinen signifikanten Einfluss auf die Lage des Gelpunktes. Bei allen Typen der B-Reihe lag dieser in einem Bereich von 140 bis 160 s. Lediglich durch die Variation der Monomere konnte eine Verschiebung des Gelpunktes beobachtet werden. Im Fall des SPMs lag dieser bei etwa 230 s und beim TMAEMA bei 800 s. Details dazu sind der Tabelle 4.1. 2 zu entnehmen. Um den Gelierungsprozess weiterhin analysieren zu können, wurden eine zeitaufgelöste dynamische Lichtstreuung (TR-DLS) der Vorläuferlösung durchgeführt.

**Tabelle 4.1. 2:** Charakterisierung der Gelpunkte mittels umgekehrter Röhrenmethode<sup>212,213</sup> und zeitaufgelöster dynamischer Lichtstreuung (TR-DLS).

Bezeichnung	Gelpunkt $t_G$ [s]	Gelpunkt $t_G$ [s]
	mittels umgekehrter Röhrenmethode	mittels zeitaufgelöster dynamischer Lichtstreuung
B10	140 ± 20	170 ± 13
B50	150 ± 10	149 ± 11
B100	160 ± 10	137 ± 4
S10	230 ± 90	232 ± 3
T10	800 ± 30	249 ± 7

Die Stammlösung zur Hydrogelsynthese wurde bei 60°C mittels TR-DLS analysiert. Dazu wurde die Intensität des Lichtes über mehrere Winkel hinweg detektiert. Grundsätzlich können zwei Kurvenverläufe beschrieben werden (Abbildung 4.1. 4). Beim B10 bleibt die Intensität zunächst konstant, bis ein sprunghafter Anstieg zu beobachten ist. An dieser Stelle erfolgte also eine Veränderung des Systems, was für die einsetzende Gelierung spricht. Die dazugehörige Zeit wird als Gelpunkt bezeichnet. Für die meisten anderen Gele ist ein ähnliches Verhalten dokumentiert. Lediglich das T10 zeigt eher einen verzögerten sigmoidalen Anstieg eines tangens hyperbolicus. Erst danach kann eine extreme Schwankung der Intensität beobachtet werden. Schon der sigmoidale Anstieg impliziert eine Veränderung des Systems, weshalb dies hier als Gelpunkt festgelegt wurde.



**Abbildung 4.1. 4:** Exemplarische Kurvenverläufe aus der zeitlich aufgelösten dynamischen Lichtstreuung (TR-DLS) der Proben B10 (links) und T10 (rechts).

Ein Vergleich zeigt eine grundsätzliche Übereinstimmung mit den ermittelten Werten aus der umgekehrten Röhrenmethode. Die B-Reihe weist zwar einen umgekehrten Trend der Gelpunkte auf, jedoch ist auch hier ein Überlapp der Fehlerbalken erkennbar. Für die Probe S10 konnte eine gute Übereinstimmung festgestellt werden. Lediglich die Probe T10 weist einen deutlichen Unterschied auf. Mittels TR-DLS wurde ein Wert von ca. 250 s ermittelt, wohingegen mittels umgekehrter Röhren Methode ein Wert von ca. 800 s bestimmt wurde. Erklärt werden kann dies anhand des oben gezeigten Kurvenverlaufs. Hier scheint die Gelierung in mehreren Stufen zu erfolgen. Dies ist für das menschliche Auge schlechter wahrnehmbar, weshalb es zu dieser großen Diskrepanz gekommen sein könnte.

Tendenziell kann zusammengefasst werden, dass die Gelierungszeit in der Monomerreihenfolge von SPE über SPM zu TMAEMA zunimmt. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeiten kann dies zunächst nicht über Polarisierungen und damit Stabilisierungen der entstehenden Radikale durch Induktive- bzw. Mesomerieeffekte begründet werden. Die Funktionalitäten der Seitenketten können keinen direkten Einfluss auf das über mehrere Bindungen entfernte Methacrylat haben. Ein Einfluss der verminderten Elektronendichte des quartären Stickstoffs ist jedoch nicht auszuschließen. Im Betain kann dies durch die erhöhte Elektronendichte der Sulfonatgruppe ausgeglichen werden. Im TMAEMA ist dies nicht gegeben, woraus eine höhere Gelierungszeit resultiert. Verstärkt wird dieser Effekt durch die Anzahl der effektiven Ladungen im Monomer und die daraus resultierenden elektrostatischen Wechselwirkungen. SPE als Zwitterion zeigt zunächst in wässriger Lösung verstärkt intramolekulare Wechselwirkungen und z.T. intermolekulare Wechselwirkungen. In Abhängigkeit von der Konzentration des Vernetzers wird die intermolekulare Wechselwirkung verstärkt. Im SPM sind zwar attraktive Wechselwirkungen mit dem Vernetzer zu erwarten, jedoch ist aufgrund des höheren Anteils an SPM die Wahrscheinlichkeit effektiver Stöße mit einem weiteren SPM-Molekül höher. Somit überwiegen auch hier eher repulsive Wechselwirkungen, was eine erhöhte Gelierungszeit im Vergleich zum SPE zur Folge hat. Moleküle des TMAEMAs und TMBEMPA/Brs zeigen ausschließlich repulsive Wechselwirkungen, was die Anzahl an effektiver Stöße verringert. Dies führt zu einer deutlich höheren Gelierungszeit. Als weiterer möglicher Erklärungsansatz können Arbeiten aus dem Gebiet der ionischen Flüssigkeiten (IL) herangezogen werden. Hier wird eine thermisch induzierte Zersetzung von Ammonium-ILs über eine Hofmann-Eliminierung oder nucleophile Substitution beschrieben.<sup>214</sup> Dies könnte zum einen eine verlängerte Gelierungszeit zur Folge haben und zum anderen die gelbliche Verfärbung des T10s erklären.

Die Gelierung wurde ebenso mittels SAXS verfolgt. Wie auch schon bei den Ergebnissen der TR-DLS liegen die Originaldaten bei der BAM und eine Herausgabe der Daten erfolgte nach wiederholten Anfragen nicht oder nur teilweise. Da die Auswertung vorrangig durch Dr. Thünemann vorgenommen wurde, muss an dieser Stelle auf die

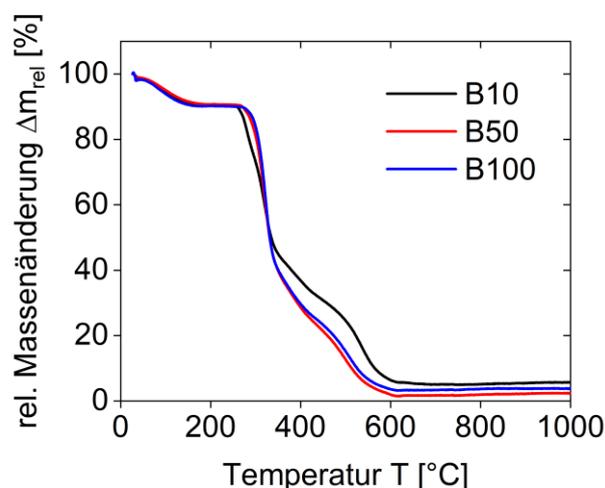
Diskussion der Ergebnisse verzichtet werden. Die Gelierung sollte zudem über elektrochemische Methoden, z.B. Impedanzspektroskopie, verfolgt werden. Jedoch konnten hier aufgrund von Kontaktschwierigkeiten keine reproduzierbaren Messergebnisse aufgezeichnet werden.

Aus diesen Werten konnten erste Erkenntnisse für die folgende Optimierung der Gelsynthese gewonnen werden. Dazu wurden vorrangig Parameter, wie das Verhältnis Monomer zu Vernetzer, Temperatur und Zeit, variiert. Zur Einschätzung des Parametereinflusses wurden zum einen makroskopische Beobachtungen wie Durchmesser und Gewicht verwendet. Zum anderen erfolgte die Charakterisierung über dynamisch mechanische Analyse (DMA). Details sind der von mir betreuten Bachelorarbeit von Anne-C. Lehnen zu entnehmen.<sup>158</sup> An dieser Stelle sollen nur die Resultate beispielhaft dargestellt werden, welche im Anschluss an die Arbeit noch weiter reproduziert wurden. So hatten sowohl die Erhöhung der Reaktionstemperatur, Reaktionszeit als auch die Erhöhung des Vernetzeranteils eine Erhöhung der Rigidität zur Folge. Eine Erhöhung des Initiators führt zu flexibleren Systemen. Dies ist in grundlegender Übereinstimmung mit der klassischen Polymerisationstheorie.

Hauptaugenmerk der weiteren Netzwerkcharakterisierung soll auf den optimierten Hydrogelen B10, B50, B100, S10 und T10 im erwähnten Gleichgewichtsquellzustand liegen.

### 4.1.2 Thermische Eigenschaften der Hydrogele

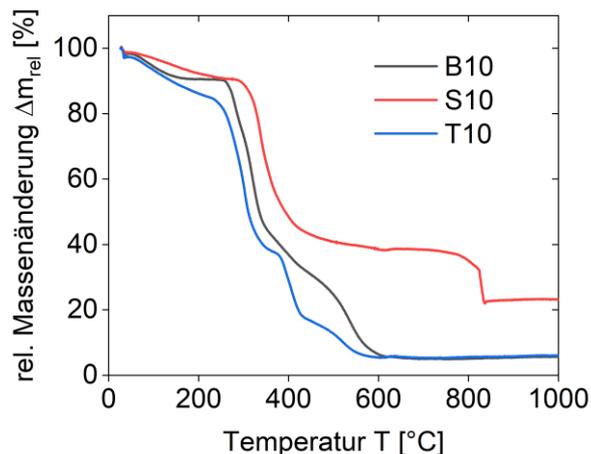
Mit Hilfe der Thermogravimetrie (TGA) und der dynamischen Differenzkalorimetrie (DSC) sollten die thermischen Eigenschaften der Hydrogele analysiert werden. In der Abbildung 4.1. 5 ist die relative Massenänderung  $\Delta m_{rel}$  in Abhängigkeit von der Temperatur für die Hydrogele der B-Reihe gezeigt.



**Abbildung 4.1. 5:** Auftragung der relativen Massenänderung  $\Delta m_{rel}$  in Abhängigkeit von der Temperatur für die Hydrogele der B-Reihe. schwarz – B10; rot – B50; blau – B100.

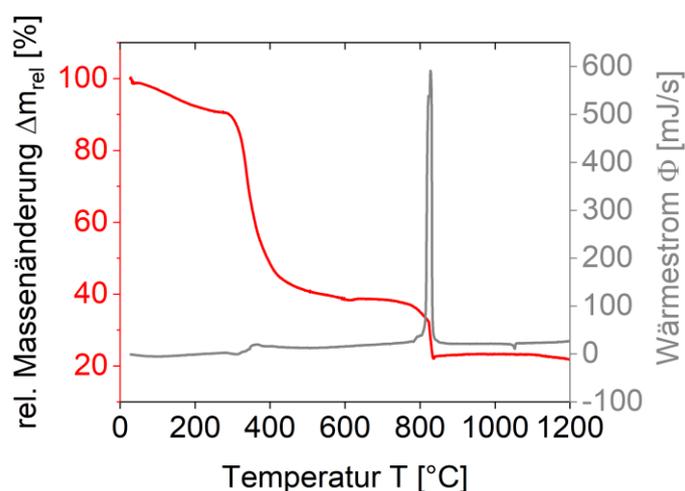
Dabei fällt auf, dass die Kurvenverläufe der Proben B50 (rot) und B100 (blau) annähernd deckungsgleich verlaufen und das B10 (schwarz) im Bereich 300-600°C abweicht. Zunächst bleibt die Masse bis zu einer Temperatur von ca. 60°C konstant. Im Anschluss wurde im Bereich von 60-180°C eine Massenänderung von ca. 8 % detektiert. Dies ist auf die Entfernung von unterschiedlich gebundenen H<sub>2</sub>O Molekülen zurückzuführen. Bei geringer Temperatur wird zunächst das Wasser des bikohärenten Systems entfernt. Mit steigender Temperatur wird dann immer stärker gebundenes bzw. im Gelinneren liegendes Wasser entfernt. Die Masse bleibt nun für weitere 70°C (B10) bzw. 90°C (B50 und B100) konstant. Dem schließt sich ein zweistufiger Abfall der Masse im Bereich bis ca. 610 °C an. Dabei ist eine klare Trennung der Stufen aufgrund von Überlappungen nicht möglich. Die Masse des B10-Hydrogels fällt zunächst steil um 42 % im Bereich 255 - 340°C ab. Ein Masseverlust von 24 % mit geringerer Steigung schließt sich diesem von 340 - 510°C an. Die letzte Massenänderung von 18 % ist im Bereich 510-600°C detektiert worden. Bis zu einer Temperatur von 1000°C verbleibt die Masse konstant bei ungefähr 6 %. Indessen ist der Massenabfall von 45 % für B50 und B100 im Bereich 280-340°C in einem annähernd 90°-Winkel. Über einen Temperaturbereich von 280°C ist der letzte Massenverlust von 44 % (B50) bzw. 42 % (B100) zu beobachten. Anschließend bleibt die Masse konstant. Die stufenweise Abnahme der Masse ist einem überlappenden oxidativen Prozess des Polymerabbaus zuzuordnen. In verschiedenen Teilprozessen werden zunächst die Vernetzungen im Gel gekappt. Anschließend erfolgt über Polymerketten, Oligomere, Monomere und einzelne Molekülfragmente die komplette Zersetzung. Unterstützt wird diese Hypothese sowohl durch die Literatur<sup>215,216</sup> als auch durch das dazugehörige DTA-Signal. Hier ist zunächst ein endothermer Prozess zu sehen, welcher die Zersetzung einleitet, begleitet durch einen stark exothermen Prozess. Die einzelnen Signale werden auch hier aufgrund gleichzeitig stattfindender Prozesse überlagert. B50 und B100 zeigen dabei ein sehr ähnliches Verhalten. Somit sind diese Typen trotz unterschiedlichem Vernetzeranteil in der Vorläuferlösung thermisch äquivalent. Demgegenüber zeigt das B10 einen leicht verzögerten Zersetzungsprozess. Begründet werden kann dies durch den höheren Anteil der permanenten Vernetzungspunkte, die im ersten Schritt zunächst zeitversetzt aufgebrochen werden müssen. Alle folgenden Prozesse sind dadurch verzögert, was sich in einer geringeren Steigung widerspiegelt.

Um den Einfluss der Monomere auf das thermische Verhalten analysieren zu können ist in der Abbildung 4.1. 6 die relative Massenänderung  $\Delta m_{rel}$  in Abhängigkeit von der Temperatur für die Hydrogele B10 (schwarz), S10 (rot) und T10 (blau) gezeigt.



**Abbildung 4.1. 6:** Auftragung der relativen Massenänderung  $\Delta m_{rel}$  in Abhängigkeit von der Temperatur für die Hydrogele mit unterschiedlichem Monomer. schwarz – B10; rot – S10; blau – T10.

S10 und T10 zeigen ein anderes thermisches Verhalten als das B10. Beim S10 fällt die Masse zunächst im Bereich 60-240°C um 8 %. Für ca. 45°C bleibt diese dann konstant. Erst hier schließt sich die größte Massenabnahme von 45 % von 285-425°C an. Während der Erhöhung von ca. 400°C findet dann eine 13 % Änderung der Masse statt. Ein sprunghafter Masseverlust von 10 % innerhalb der folgenden 15 °C schließt die Änderung der Masse ab. Es verbleibt ab 840°C eine konstante Masse von 22 %. Der erhöhte Restmassengehalt und der sprunghafte Massenverlust ab 825°C bei der Probe S10 kann mit Hilfe des DTA-Signals aufgeklärt werden (Abbildung 4.1. 7).



**Abbildung 4.1. 7:** Auftragung der relativen Massenänderung  $\Delta m_{rel}$  in Abhängigkeit von der Temperatur für S10 (rot) und gleichzeitiger Auftragung des Wärmestroms  $\Phi$  gegen die Temperatur (grau).

Darin ist ein endothermes scharfes Signal bei ca. 828 °C und ein schwach exothermes Signal bei ca. 1053°C detektiert.  $K_2SO_4$  wird in der TA als Referenzsubstanz verwendet, welches bei 584°C (Umwandlung von orthorhombischen in ein hexagonales Kristallsystem)<sup>217</sup> und 1069°C

(Schmelzpunkt Smp.) solche Signale aufzeigt. Es ist somit nicht auszuschließen, dass K<sup>+</sup>-Ionen und SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>-Ionen des SPM-Monomers die Restmasse ausmachen. Die Verschiebung der Temperatur ist über die Reinheit zu erklären. Da die SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>-Ionen aus dem org. Molekül durch oxidative Zersetzungsprozesse entstanden sind, ist eine Mischkristallbildung nicht auszuschließen.

Der Verlauf der Massenänderung des Hydrogels T10 ähnelt generell dem des B10s. Der erste Massenverlust von 13 % ist innerhalb von 55-235°C zu beobachten. Dem schließt sich der größte Massenverlust von 45 % im Temperaturfenster von 235-350°C an. Nach einem kleineren Plateau von ca. 25°C verringert sich die Masse um weitere 19 % bis zu einer Temperatur von 430°C. Die letzte Massenänderung von 12 % bis zu einer Temperatur von 580°C mündet in einer konstanten Restmasse von 6 %. Die Zuordnungen des Masseverlustes wurde bereits detailliert für die B-Reihe beschrieben. Dies kann in analoger Weise auch hier angewendet werden. Lediglich die stufenweisen Übergänge für die Probe T10 sind stärker ausgeprägt. Dies impliziert eine homogene Netzwerkstruktur und damit klarer voneinander getrennte oxidative Zersetzungsprozesse.

Aus diesen Daten können neben dem thermischen Verhalten auch die Trockenmasse der Xerogele ermittelt werden. Dazu wurde zunächst gravimetrisch eine Trockenmasse von 1,01 ± 0,02 g (B10), 0,97 ± 0,05 g (B50) und 0,86 ± 0,02 g (B100) bestimmt. Mit dem ersten Masseverlust aus den TGA-Daten ergibt sich so eine gesamte Trockenmasse von 0,93 g (B10), 0,88 g (B50) und 0,81 g (B100). Daraus kann der Wasseranteil im Hydrogel bestimmt werden. Somit enthält das B10 84 %, B50 79 % und B100 67 % Wasser. Mit unterstützenden Daten aus der Elementaranalyse zum Anteil an S und N im Xerogel lässt sich daraus das tatsächliche Verhältnis von Monomer zu Vernetzer berechnen (vgl. Kapitel 7.2.4). Tabelle 4.1. 3 fasst die Ergebnisse zusammen.

**Tabelle 4.1. 3:** Zusammensetzung der verschiedenen Hydrogele. a) bestimmt mittels Elementaranalyse bezogen auf die Trockenmasse.

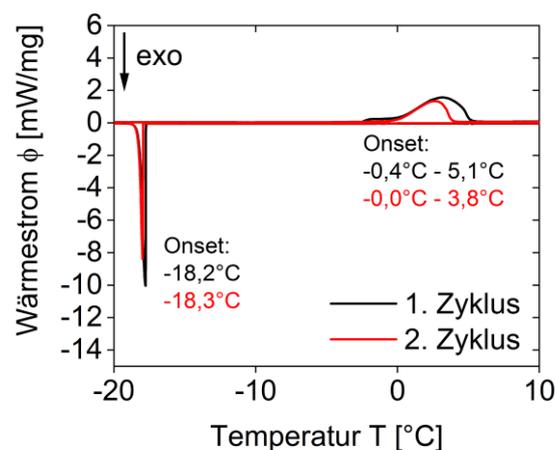
<b>Bezeichnung</b>	<b>Molares Verhältnis Monomer : Vernetzer</b>	<b>Experimentelles Verhältnis Monomer : Vernetzer<sup>a)</sup></b>
B10	12,00 : 1,20 mmol (10:1)	14:1
B50	12,00 : 0,24 mmol (50:1)	58:1
B100	12,00 : 0,12 mmol (100:1)	nicht messbar

Daraus wird ersichtlich, dass bei einem theoretischen Wert von 10:1 für das B10 ein tatsächliches Verhältnis von 14:1 vorliegt. Beim B50 liegt der Wert anstatt bei 50:1 bei 58 1. Im Falle des B100s konnten aufgrund der kleinen Messwerte und der Messungenauigkeit

keine validen Ergebnisse ermittelt werden. Zusammengenommen für die Proben B10 und B50 kann jedoch gesagt werden, dass ein gutes Ergebnis trotz freier radikalischer Polymerisation ohne jegliche Kontrolle realisiert werden konnte. Für das S10 ergibt sich aus der mittleren Trockenmasse von 0,8986 g ein Verhältnis von 8:1. Dieser Wert liegt etwas geringer als das angestrebte Verhältnis, jedoch ist auch hier eine gute Übereinstimmung trotz FRP zu erkennen. Erklärt werden kann der geringere Anteil an SPM beispielweise aufgrund der repulsiven WW. der einzelnen Edukte. Eine analoge Bestimmung für die Probe T10 ist nicht machbar, da keine strukturelle Unterscheidung zwischen Monomer und Vernetzer möglich ist.

Auch das Quellverhältnis  $Q$  kann nun über das Verhältnis Nassmasse des Hydrogels zu Trockenmasse des Xerogels berechnet werden. Daraus ergeben sich für  $Q_{B10} = 4,7$ ,  $Q_{B50} = 3,7$ , und  $Q_{B100} = 2,8$ . Somit adsorbiert das Xerogel von B10 eine größere Menge  $H_2O$ . Dies ist insofern erwähnenswert, da es sich beim B10 um das Netzwerk mit einem höheren Anteil an Vernetzer handelt. Chemische Vernetzungspunkte sollten die Quellfähigkeit einschränken.

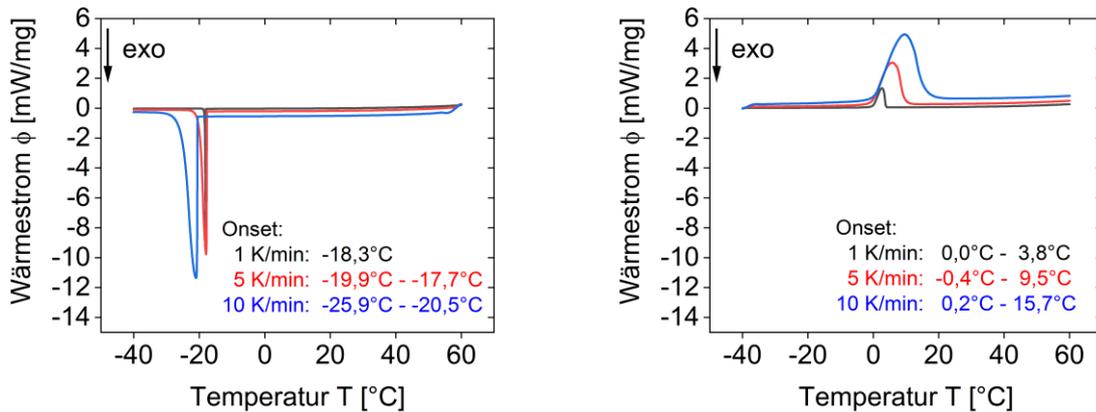
Zur weiteren Analyse des thermischen Verhaltens wurden Thermogramme mittels dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC) aufgenommen. Zentrale Fragen sind hier zunächst, ob in einem offenen System der zweite Zyklus zur Auswertung verwendet werden kann und welche Heizrate verwertbare Daten liefert. In konventionellen DSC-Messungen wird der erste Messzyklus üblicherweise nicht verwendet, da hier die Daten aufgrund der sogenannten „Probenvorgeschichte“ also z.B. Geometrie und Deformation verfälscht werden können. Anhand von Abbildung 4.1. 8 soll exemplarisch am Hydrogel B10 überprüft werden, ob dies auch bei einem System mit hohem Anteil an  $H_2O$  möglich ist oder ein starker Verlust des Lösungsmittels und dazugehörige Verdampfungs- bzw. Kondensationsprozesse das System zu stark verändern.



**Abbildung 4.1. 8:** Exemplarisches Thermogramm der Probe B10 aufgenommen mit 1 K/min. Zum Vergleich sind hier die ersten beiden Zyklen dargestellt.

Im Thermogramm sind zwei Peaks detektiert worden. Wird die Probe zunächst auf eine Temperatur unterhalb  $-20^{\circ}\text{C}$  gekühlt, kann bei einer Heizrate von  $1\text{ K/min}$  im ersten Zyklus (schwarz) ein Peak mit einem Onset von  $-18,2^{\circ}\text{C}$  ermittelt werden. Im zweiten Zyklus (rot) ist dieser um  $0,1^{\circ}\text{C}$  zu tieferen Temperaturen verschoben. In diesem Fall haben die wiederholten Kühl- und Heizprozesse keine signifikanten Auswirkungen. Betrachtet man die dazugehörigen Flächen unterhalb des Peaks, also die Enthalpien, kann aber eine Abweichung festgestellt werden. Unter den Umständen reduziert sich die Enthalpie von  $-181,3\text{ J/g}$  auf  $-103,7\text{ J/g}$ . An dieser Stelle ist also nicht vollständig auszuschließen, dass eine Veränderung des Systems infolge Verdampfung stattgefunden hat. Dieses exotherme Signal kann der Kristallisation von Wasser zugeordnet werden. Da dies jedoch nicht bei  $0^{\circ}\text{C}$  auftritt, kann von einer unterkühlten Schmelze ausgegangen werden. Die Gefrierverzögerung tritt auf, da die Kristallisationswärme einen metastabilen Zustand, den Ostwald-Miers-Bereich, generiert. Außerdem ist zu vermuten, dass eine Gefrierpunktniedrigung infolge der geladenen Seitenketten auftritt, welche als quasi zusätzlich gelöste Komponente fungiert. Diese kolligative Eigenschaft ist daher nicht von der Art der Seitenketten, sondern lediglich von der Anzahl abhängig. Der Kühlkurve schließt sich ein Heizprozess bis zu  $60^{\circ}\text{C}$  an, wobei der Kurvenverlauf nur bis  $10^{\circ}\text{C}$  gezeigt ist. Auch hier kann ein Peak beobachtet werden. Auffällig ist hier die Form des endothermen Peaks, welche sich über einen breiteren Temperaturbereich erstreckt. Im ersten Heizlauf liegt dieser bei  $-0,4 - 5,1^{\circ}\text{C}$  und im zweiten Heizlauf bei  $-0,0 - 3,8^{\circ}\text{C}$ . Hier ist somit eine Verschiebung zu beobachten. Auch die Fläche reduziert sich von  $296,5\text{ J/g}$  auf  $192,3\text{ J/g}$ . Dieser Peak kann der Schmelze von Wasser zugeordnet werden und ist analog zum bisher Beschriebenen ebenfalls verschoben. Auf Basis dieser Beobachtungen wird für alle weiteren Betrachtungen und Vergleiche der zweite Zyklus verwendet und unter Einbeziehung der möglichen Reduzierung der Peakfläche eine verstärkte Auswertung der Peaklage vorgenommen.

In Abbildung 4.1. 9 ist exemplarisch an der Probe B10 die Auswirkung der Heizrate auf den Onset der Kristallisations- bzw. Schmelzpunkte gezeigt. Es können zwei grundlegende Tendenzen beschrieben werden, welche in guter Übereinstimmung mit der Literatur sind. Zum einen werden die Signale mit zunehmender Heizrate immer breiter. Zum anderen wird der jeweilige Onset ebenfalls mit zunehmender Heizrate zu höheren Temperaturen verschoben.



**Abbildung 4.1. 9:** Exemplarische Thermogramme der Probe B10 inklusive Heizratenvergleich des 2. Zyklus. Die Heizraten betragen 1 K/min (schwarz), 5 K/min (rot) und 10 K/min (blau). Links – Kühlkurven; Rechts – Heizkurven.

Die Auswertung der Thermogramme ergibt eine Abhängigkeit des thermischen Verhaltens von der Heizrate und auch Probenmenge. Um dem entgegenzuwirken wurde eine Extrapolation der Kristallisationstemperatur auf eine simulierte Heizrate von 0 K/min versucht. Dies ist lediglich für die Probe B10 annähernd erfolgreich. Bei allen anderen Proben ist eine zu starke Schwankung zu beobachten und ein  $R^2$  im Bereich von mindestens 0,998 ist nicht zu erreichen. Daher wurde darauf verzichtet. Im Folgenden sollen lediglich die Thermogramme mit einer Heizrate von 1 K/min ausgewertet und verglichen werden. Die vollständigen Werte sowie dazugehörige Thermogramme sind dem Anhang A zu entnehmen.

**Tabelle 4.1. 4:** Zusammenfassung der Daten aus den Thermogrammen des zweiten Zyklus aufgenommen mit einer Heizrate von 1 K/min.

Hydrogel	Gefrierpunkt	Spez. Enthalpie	Schmelzpunkt	Spez. Enthalpie
	$T_{GP}$ [°C]	Gefrierpunkt $h_{GP}$ [J/g]	$T_{Smp.}$ [°C]	Schmelze $h_{Smp.}$ [J/g]
B10	-18,3 - -19,1	-103,7	0,0 - 3,8	192,3
B50	-20,4 - -18,7	-19,3	-0,3 - 2,8	106,7
B100	-12,8*	-116,5*	-0,1 - 2,9*	91,8*
S10	-12,9*	-245,0*	-0,1 - 4,4*	252,4*
T10	-13,1*	-257,0*	-0,2 - 4,8*	275,7*

\* - Daten aus Messungen von Anne-C. Lehnen.

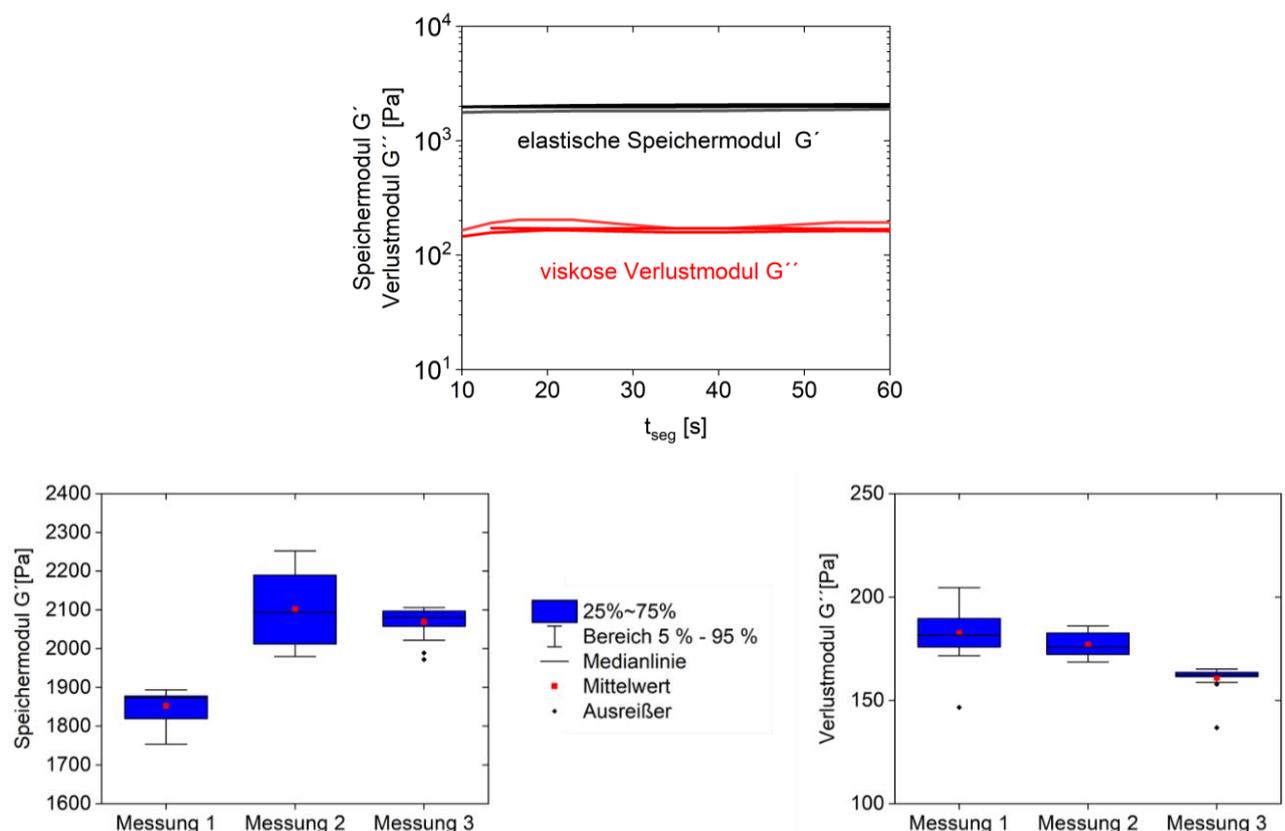
Aus den ermittelten Temperaturbereichen wird ersichtlich, dass die Vernetzerdichte und das Monomer keinen tendenziellen Einfluss auf  $T_{GP}$  und  $T_{Smp.}$  aufweist. Die Gefrierpunktserniedrigung wurde am Beispiel des B10s schon begründet. Dies kann also analog auch für die anderen Hydrogeltypen zur Erklärung verwendet werden.

### 4.1.3 Mechanische Eigenschaften der Hydrogele

Makroskopisch lassen sich die Hydrogele aufgrund ihrer mechanischen Eigenschaften unterscheiden. So ist das B10 rigide und bei existierenden Sollbruchstellen spröde. B50 und B100 hingegen zeigen elastische Eigenschaften und lassen sich mit den Fingern ziehen ohne zu zerbrechen. S10 ist dem B10 relativ ähnlich, wobei die Eigenschaften etwas stärker ausgeprägt scheinen. T10 ist zwar relativ rigide, aber nicht spröde.

Um diese Vorbetrachtungen quantifizieren zu können, wurden die mechanischen Eigenschaften der Hydrogele mittels Rheometrie in Form des Speichermoduls  $G'$  und Verlustmoduls  $G''$  bestimmt. Daraus lässt sich ergänzend der Verlustfaktor  $\tan \delta$  mit dem Verlustwinkel  $\delta$  berechnen.

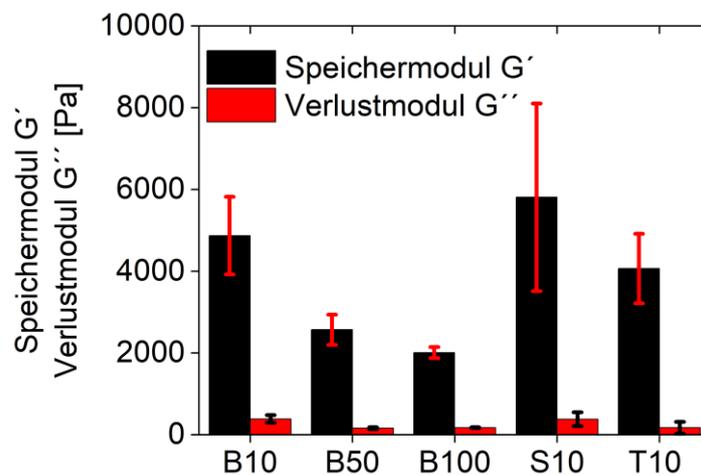
Es wurden Dreifachmessungen mit Hydrogelen aus verschiedenen Ansätzen durchgeführt, weshalb zunächst eine Prüfung der Varianz (ANOVA engl. „*analysis of variance*“) erfolgte. Die Daten sind exemplarisch an den Ergebnissen des Hydrogels B100 in der nachfolgenden Abbildung 4.1. 10 gezeigt. An dieser Stelle sei jedoch darauf hingewiesen, dass diese Methode bei geringem Stichprobenumfang nicht aussagekräftig ist, weshalb diese Auswertung eher als Tendenz angesehen werden sollte. Außerdem wird eine Normalverteilung vorausgesetzt.



**Abbildung 4.1. 10:** Rheometrie von B100 a) dreifache Bestimmung der Speicher- und Verlustmodule; b) Box-Diagramme vom Speichermodul; c) Box-Diagramm vom Verlustmodul.

Daraus wird ersichtlich, dass die Messwerte von  $G'$  und  $G''$  nicht für alle drei Messungen identisch sind. Gemäß der Erwartung einer freien radikalische Polymerisation ohne Kontrolle der Synthese sind die Unterschiede aber deutlich geringer ausgeprägt. Aus den dazugehörigen Box-Diagrammen jedoch wird deutlich, dass sich die Fehlerbalken der Einzelmessungen überlappen. Somit können für die weitere Auswertung die Mittelwerte der drei Messungen verwendet werden (Abbildung 4.1. 11).

Über die Lage von  $G'$  und  $G''$  kann das viskoelastische Verhalten näher beschrieben werden. Da in allen Fällen  $G' > G''$  ist, kann von einem viskoelastischen Feststoff ausgegangen werden. Im anderen Fall wäre es eine viskoelastische Flüssigkeit. Außerdem verlaufen beide Module annähernd konstant über die Zeit. Ein solcher Verlauf ist beispielhaft für Gelsysteme. Ein sogenannter Fließpunkt ist zu keiner Zeit zu beobachten. In diesem linear viskosen Bereich ist also keine Veränderung der mech. Eigenschaften zu erkennen.



**Abbildung 4.1. 11:** Auftragung der Mittelwerte des Speicher- und Verlustmoduls  $G'$  bzw.  $G''$  gemessen mit 1 Hz bei 25°C.

Aus dieser Auftragung wird ersichtlich, dass sich  $G'$  sowohl durch Variation des Monomer zu Vernetzer Verhältnisses als auch durch den Monomerwechsel unterscheidet. Die Hydrogele der B-Reihe besitzen einen höheren  $G'$ -Wert je höher der Anteil an Vernetzer ist. So zeigt B10 einen Wert von  $4869 \pm 951$  Pa, B50 einen Wert von  $2569 \pm 371$  Pa und B100 einen Wert von  $2008 \pm 136$  Pa. Folglich ist  $G'$  von B10 2,4-mal höher als  $G'$  von B100. Es ist jedoch anzumerken, dass die Unterschiede deutlich geringer als erwartet ausfallen. Bei der Annahme einer zehnfach erhöhten Menge an Vernetzer im Vergleich B10 zu B100 ist der Unterschied von  $G'$  deutlich geringer ausgeprägt. Für  $G''$  ist dieser Unterschied ähnlich, jedoch weniger deutlich. Die Werte variieren hier im Bereich von  $384 \pm 93$  Pa (B10),  $159 \pm 25$  Pa (B50) und  $173 \pm 11$  Pa (B100). Daraus ergeben sich für  $\tan \delta$  Werte von  $0,080 \pm 0,026$  (B10),  $0,062 \pm 0,001$  (B50) und  $0,085 \pm 0,010$  (B100). Zum einen sind die Werte der Proben in einer ähnlichen Größenordnung, weshalb ein Vergleich möglich ist. Zum anderen strebt der Wert

gegen 0, was ein ausgeprägtes elastisches Verhalten gegenüber dem viskosen Verhalten impliziert.

Ob das Monomer einen Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften besitzt, kann aus dem Vergleich der Messwerte von  $G'$  und  $G''$  der Hydrogele B10, S10 und T10 gezogen werden. B10 mit  $G' = 4869 \pm 951$  Pa, S10 mit  $G' = 5809 \pm 2295$  Pa und T10  $G' = 4066 \pm 854$  Pa dienen dabei als Ausgang der Diskussion. Zum einen fällt auf, dass die Standardabweichung deutlich höher ist als bei den Proben B50 und B100. Grund hierfür ist vor allem die Rigidität der Probe, welche die Messwertaufnahme und das Einspannen der Probe im Gerät erschwerte. Zum anderen liegen die Werte im selben Bereich, sodass eine klare Unterscheidung aufgrund des Monomers nicht möglich ist. Analog fällt der Vergleich von  $G''$  aus. Bei Werten von  $384 \pm 93$  Pa (B10),  $380 \pm 169$  Pa (S10) und  $169 \pm 145$  Pa (T10) ist ebenfalls keine klare Tendenz des Monomers abzulesen. Lediglich Gruppen von Hydrogelen lassen sich bilden. So scheint B10 und S10 ähnliche mechanische Eigenschaften aufzuweisen. Wohingegen T10 eher mit B50 und B100 vergleichbar scheint. Der Verlustfaktor ist für B10  $0,080 \pm 0,026$  und für S10  $0,065 \pm 0,012$ , womit eine analoge Betrachtung s.o. möglich ist. Für das Hydrogel T10 ist eine Berechnung nicht möglich, da  $G''$  für die dritte Messung eine zu große Standardabweichung im Vergleich zur Messung 1 und 2 aufweist. Nimmt man nur zwei Messungen zur Mittelwertbildung ergeben sich für  $G' = 3772 \pm 971$ , für  $G'' = 85 \pm 5$  und  $\tan \delta = 0,023 \pm 0,005$ .

Mittels Rheometrie lässt sich zudem der Betrag der komplexen Viskosität  $|\eta^*|$  bestimmen. Dieser variiert in den Extrema von  $1242 \pm 245$  Pa·s für das S10 und  $321 \pm 20$  Pa·s für das B100. Generell lässt sich auch hier die Tendenz formulieren, je geringer der Vernetzeranteil, desto geringer  $|\eta^*|$ . Außerdem ist hier ein Unterschied in den verwendeten Monomeren erkennbar.

Eine frequenz- und/oder zeitabhängige Messung der mechanischen Eigenschaften lieferte keine reproduzierbaren Ergebnisse. Die Daten würden auf eine Dilatanz (Scherverdickung) während der Beanspruchung deuten. Als Ursache ist aber vorrangig eine Synärese (physikalische Phasentrennung) über die Zeit zu sehen. Auch Messungen mittels DMA sind nur bedingt für eine Auswertung geeignet, da aufgrund fehlender Ausstattung lediglich Kompression vermessen wurde. Die Hydrogele wirken einer Kraft von oben durch eine Formveränderung in der Breite entgegen. Dies führt zu einem reduzierten Messwert. Details sind aber, wie bereits erwähnt, in der Bachelorarbeit von A.-C. Lehnen zu entnehmen.<sup>158</sup>

Am Beispiel B100 wurde versucht mittels Kompression eine Zerreißspannung zu messen. Auch dies scheiterte. Grund hierfür ist die Ausdehnung bis auf einen Durchmesser von 15 cm. Die Kompressionsplatten wurden lediglich durch einen mit dem bloßen Auge schwer erkennbaren, aber scheinbar intakten, Hydrogelfilm auseinandergehalten. Dies

bestätigt die makroskopischen Beobachtungen der elastischen Eigenschaften des B100s. Tabelle 4.1. 5 fasst nun die gesammelten Ergebnisse zur mechanischen Analytik zusammen.

**Tabelle 4.1. 5:** Zusammenfassung der Ergebnisse der Rheometrie. Darin enthalten das Speichermodul  $G'$ , das Verlustmodul  $G''$ , der Verlustfaktor  $\tan \delta$  und die komplexe Viskosität  $|\eta^*|$  für die Hydrogele der B-Reihe, S10 und T10.

Hydrogel	Speichermodul $G'$ [Pa]	Verlustmodul $G''$ [Pa]	Verlustfaktor $\tan \delta$	Komplexe Viskosität $ \eta^* $ [Pa·s]
B10	4869 ± 951	384 ± 93	0,080 ± 0,026	778 ± 127
B50	2569 ± 371	159 ± 25	0,062 ± 0,001	410 ± 50
B100	2008 ± 136	173 ± 11	0,085 ± 0,010	321 ± 20
S10	5809 ± 2295	380 ± 169	0,065 ± 0,012	1242 ± 245
T10	3772 ± 971*	85 ± 5*	0,023 ± 0,005*	619 ± 120

\* - Zur Mittelwertbildung wurden lediglich zwei anstatt drei Messungen verwendet.

Erklären lassen sich diese Werte und Tendenzen über die unterschiedlichen effektiven Ladungen und damit Konformation der Polymerketten im Netzwerk. In der B-Reihe unterscheiden sich die Hydrogele vorrangig durch den Anteil des Vernetzers und damit zwei positive Ladungen des quartären Ammoniumions. Die dazugehörigen repulsiven Wechselwirkungen, also Streckung und Versteifung der Ketten, erzeugen zusätzliche Spannungen im Netzwerk. Unterstützt würde diese Hypothese durch vermehrt auftretende Quervernetzungen, welche das Netzwerk mechanisch anfälliger machen. Dies spiegelt sich in höheren Modulen und der allgemeinen spröden Eigenschaft des B10 wider. Die elastischen Eigenschaften des B50s und B100s werden vorrangig durch die Flexibilität der zwitterionischen Seitenkette und der verringerten Anteile der Quervernetzungen geprägt. Die Ladungen des SPE als zwitterionisches Monomer kompensieren sich gegenseitig intramolekular. Bei Einwirkung einer Kraft kann das System durch Aufhebung der repulsiven Kräfte bzw. Umorientierungen zu intermolekularen Wechselwirkungen ein flexibles Netzwerk generieren, was in Form von geringeren Modulen und komplexen Viskositäten auftritt.

Im S10 hingegen treffen die zwei positiven Ladungen des Vernetzers auf die negative Ladung des SPMs. Zwischen den Seitenketten und innerhalb einer Quervernetzung überwiegen repulsive Wechselwirkungen. Lediglich zwischen Seitenkette und Quervernetzung sind attraktive Wechselwirkungen, also Knäuelbildungen, denkbar. Außerdem ist der Vernetzeranteil vergleichbar mit dem des B10s. Diese Kombination aus repulsiven WW: und hoher Vernetzeranteil resultiert in höhere Module und hohen komplexen Viskositäten. Das

System ist mechanisch fester und weniger flexibel. Im T10 wiederum sind lediglich repulsive Wechselwirkungen mit hohem Anteil der Quervernetzungen zu betrachten. Demzufolge ist das System generell rigide, kann aber aufgrund der flexiblen Seitenketten etwaige Spannungen durch Umorientierung kompensieren. Das System ist fest aber nicht spröde und weißt mechanische Parameter im intermediären Bereich des Gemessenen auf. Zudem können in den Hydrogelen der B-Reihe und im SPM neben der chemischen Vernetzung auch physikalische Vernetzungspunkte der Seitenkettenfunktionalität generiert werden. Dies stabilisiert das Netzwerk zusätzlich.

### **Quelleigenschaften**

Weitere erste Hinweise auf die Struktur des Netzwerks konnten mit Hilfe von Quellexperimenten durchgeführt werden. In der vorangegangenen Masterarbeit wurden Quellstudien ausgehend vom Xerogel zur Bestimmung der maximalen Aufnahme an Lösungsmittel in einer definierten Zeitspanne durchgeführt.<sup>211</sup> Analoge Experimente mit den Hydrogelen der B-Reihe bzw. S10 und T10 führten zu keinen repräsentativen Ergebnissen, da eine inhomogene Lösungsmittelaufnahme zu Spannungen im Xerogel führte und dieses zerbrach. Außerdem ist schon die Generierung des Xerogels durch sukzessive Lösungsmittelentfernung nicht immer bruchfrei zu gewährleisten. Daher wurden lediglich die Durchmesser in verschiedenen Medien analysiert. In Reinstwasser ist B10 mit 3,4 cm am größten und B100 mit 2,7 cm etwas kleiner. In 0,1 mol/L  $\text{CaCl}_2$  Lösung kann nun beobachtet werden, dass beide nahezu gleich groß sind (B10  $2,8 \pm 0,1$  cm und B100  $3,0 \pm 0,1$  cm). In 0,5 mol/L dreht sich das Verhältnis um und das B10 ist mit 3 cm deutlich kleiner als das B100 mit 5 cm. Erklärt werden kann dies über die unterschiedlichen Anteile an funktionellen Gruppen im Netzwerk. Das B10 enthält formal einen höheren Anteil an positiven Ladungen des Vernetzers im Rückgrat des Polymers und weniger zwitterionische Funktionalitäten in den Seitengruppen. In Wasser dominieren die repulsiven Wechselwirkungen des Rückgrats und das Gel ist insgesamt größer aufgrund der Streckung der Ketten. Durch Zugabe einer Salzlösung werden diese Wechselwirkungen unterbrochen und damit die Debye-Länge erhöht, weshalb bei geringer Konzentration des Salzes die attraktive Wechselwirkung dominiert und das Hydrogel schrumpft. Die Polymerketten liegen dann vermehrt als Polymerknäuel vor. Bei 1 mol/L Salzlösung ist dann wiederum ein Anstieg des Durchmessers zu beobachten, da die Funktionalitäten des Netzwerks mit Salzionen gesättigt wurden und damit wieder die repulsiven WW. dominieren.

Im Gegensatz dazu enthält das Polymerrückgrat des B100 weniger positive Ladungen des Vernetzers und einen höheren Anteil zwitterionische Seitenketten. Daher ergibt sich ein umgekehrtes Bild. In Wasser dominieren attraktive WW., welche in Salzlösungen zunehmend aufgebrochen werden. Folglich ist B100 in Wasser kleiner als in Salzlösung. Auch in 1 mol/L

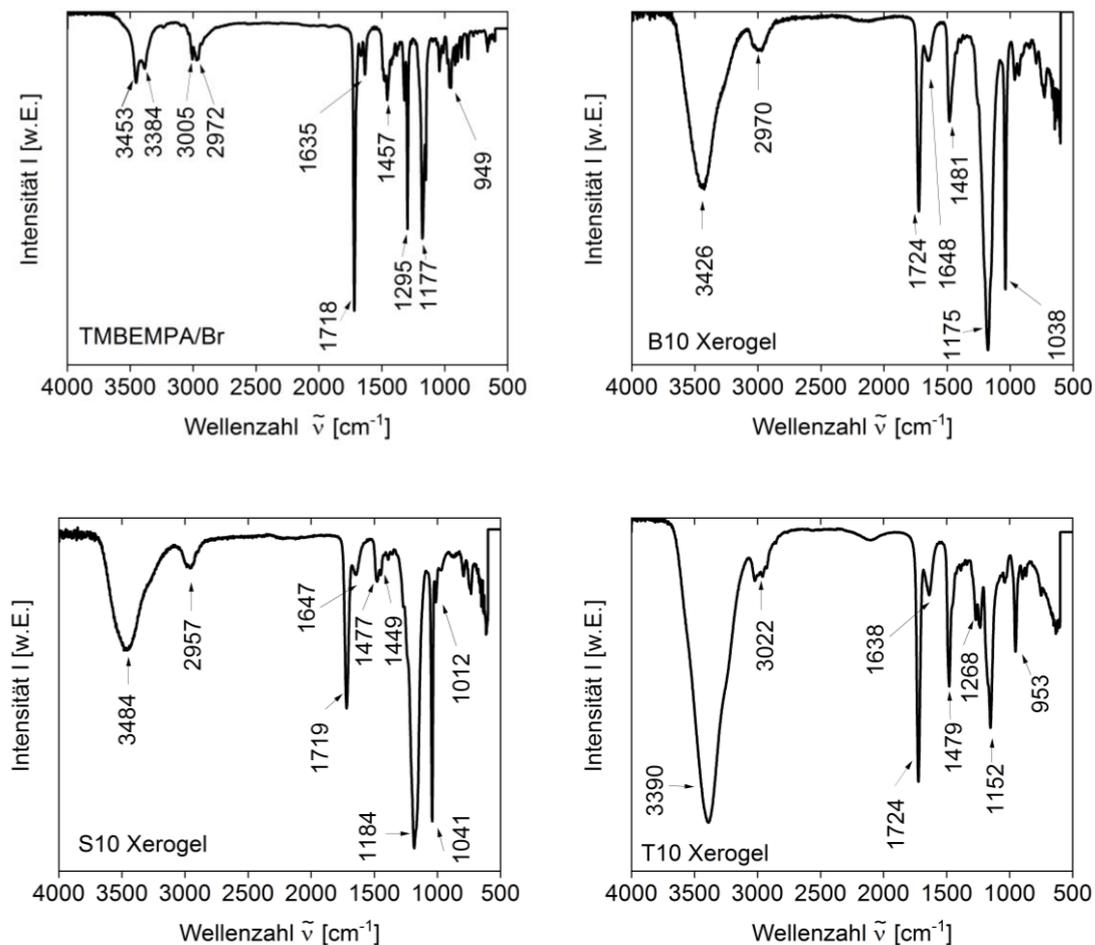
Salzlösung ist eine Vergrößerung des Durchmessers erkennbar. Auch das Hydrogel B50 zeigt dieses Verhalten, weshalb die angeführte Beschreibung auch in diesem Fall anzuwenden ist. Somit unterstützen diese Ergebnisse die hypothetischen Erklärungen bezüglich der mechanischen Eigenschaften der B-Reihe.

Zusammenfassend kann an dieser Stelle gesagt werden, dass sowohl das Monomer zu Vernetzer Verhältnis als auch die Struktur der Monomere die Quelleigenschaften und die mechanischen Eigenschaften beeinflussen. Lediglich die thermischen Eigenschaften zeigen keine ausgeprägte Divergenz. Um dies näher analysieren zu können und die Hypothesen zur Erklärung der Eigenschaften zu überprüfen wurde die Struktur anschließend vorrangig mittels IR-Spektroskopie, Kryo-REM, Niederfeld-NMR Spektroskopie und SAXS bestimmt.

#### 4.1.4 Charakterisierung der Netzwerke

##### Strukturaufklärung mittels IR-Spektroskopie

Zunächst erfolgte die Strukturaufklärung mittels IR-Spektroskopie. Die erhaltenen Spektren von TMBEMPA/Br und der Xerogele B10, S10 und T10 sind in der nachfolgenden Abbildung 4.1. 12 zusammengefasst.



**Abbildung 4.1. 12:** IR-Spektren des Vernetzers TMBEMPA/Br und der Xerogele B10, S10 und T10.

Im Spektrum des Vernetzers sind Banden bei 3453 und 3384  $\text{cm}^{-1}$  zu erkennen, welche sowohl Streckschwingungen ( $\nu$ ) des Kristallwassers und N-H-Schwingungen zugeordnet werden können. Auch die Banden bei 3005 und 2972  $\text{cm}^{-1}$  können mit den  $\nu$ -Schwingungen der C-H Bindung und einer analogen Schwingung in der Doppelbindung im Methacrylat zwei unterschiedlichen Schwingungen zugeordnet werden. Die Bande mit der höchsten Intensität bei 1718  $\text{cm}^{-1}$  resultiert aus der Schwingung von der C=O Bindung im Ester des Methacrylats. Die C=C Doppelbindung ist in Form einer Bande bei 1665 und 1635  $\text{cm}^{-1}$  vertreten, wobei letztgenannte auch der CNH Schwingung zugeordnet werden kann. Dies macht die Bestimmung der nicht umgesetzten Doppelbindungen und damit die Bestimmung des Umsatzes entsprechend der Literatur unmöglich.<sup>218</sup> Deformationsschwingungen ( $\delta$ ) sind durch Banden bei 1456  $\text{cm}^{-1}$  ( $\delta$  C-H) und 1424  $\text{cm}^{-1}$  ( $\delta$ =CH<sub>2</sub>) vertreten. Auch Schaukelschwingungen ( $\gamma$ ) können durch Banden im Bereich 1380 - 1320  $\text{cm}^{-1}$  (=CH des Methacrylats) beobachtet werden. Zwei weitere Banden hoher Intensität bei 1295 und 1177  $\text{cm}^{-1}$  können wiederum  $\nu$  einer C-O Bindung, genauer gesagt der C-O-C Gruppe des Methacrylats, zugeordnet werden. Vor allem im Bereich unterhalb von 1200  $\text{cm}^{-1}$  ist eine genaue Zuordnung nicht uneingeschränkt möglich. So sind hier beispielsweise  $\nu$ C-C (1042  $\text{cm}^{-1}$ ), Gerüstschwingungen des Methacrylats (1011 und 816  $\text{cm}^{-1}$ ), =CH<sub>2</sub> Molekülschwingung (949  $\text{cm}^{-1}$ ) und  $\delta$  C-O (660  $\text{cm}^{-1}$ ) zu finden.

Ein Vergleich des Spektrums von TMBEMPA/Br mit denen der Xerogelee zeigt eine grundlegende Übereinstimmung der Bandenlage, jedoch eine Verbreiterung der beschriebenen Banden. Ansonsten sind im Spektrum des B10s und S10s zusätzliche Banden bei ca. 1150  $\text{cm}^{-1}$  zu beobachten, welche durch Schwingungen der Sulfonatgruppe hervorgerufen werden. Die Bandenlage kann z.B. durch eine Änderung des Bindungswinkels hervorgerufen werden, also durch Kopplungen mit der Umgebung des Netzwerks. Die Verbreiterung ist i.d.R. ein Zeichen für eine ungenügende spektrale Auflösung. Das Rayleigh-Kriterium zur Trennung solcher einzelnen Spektrallinien ist nicht ausreichend erfüllt. Als Ursache kann hier die Ausbildung von H-Brücken im Netzwerk und verbliebene H<sub>2</sub>O Moleküle angesehen werden. Dies ist besonders erkennbar an den Banden bei ca. 3423-3344  $\text{cm}^{-1}$  und 2985-2972  $\text{cm}^{-1}$ . Beim Vergleich dieser Banden in den Spektren der Xerogelee fällt auf, dass diese besonders breit und mit höherer Intensität beim T10 zu finden sind. Dies spricht zunächst für ein ausgeprägtes Netzwerk der H-Brücken aufgrund des höheren Stickstoffanteils. Auch ein höherer Wasseranteil muss an dieser Stelle diskutiert werden. Eine zusätzliche Überprüfung auf Doppelbindungen im Xerogel kann nicht getroffen werden, da die charakteristischen Banden im Bereich um 3080  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{as}}$ ) und um die 3000  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{s}}$ ) durch die beschriebenen verbreiterten Banden verdeckt werden.

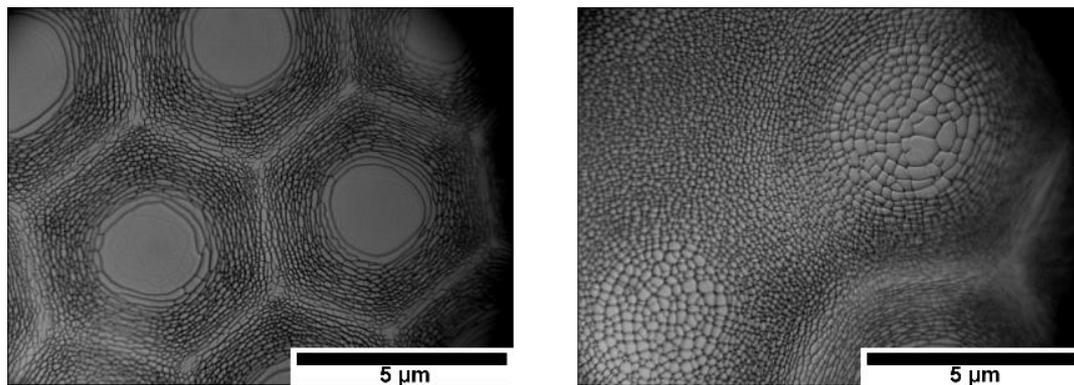
Um Rückschlüsse bezüglich nicht umgesetzten Monomers bzw. freier Doppelbindungen zu gewinnen wurde versucht die Bromzahl zu bestimmen. Jedoch lieferte

diese Methode keine reproduzierbaren und verwertbaren Daten, weil die Netzwerke eine Ausgangsspannung erzeugen. Da die Methode die Veränderung der Spannung durch Addition von Brom an die Doppelbindung misst, kann nicht unterschieden werden, ob die Spannungsänderung aus einer veränderten Netzwerkspannung oder der Reaktion von Brom resultiert.

### **Oberflächenanalytik**

Bereits mit bloßem Auge fielen Unterschiede der Hydrogeloberfläche auf. So schien die Oberfläche des B10s und des B100s nahezu eben, ohne sichtbare Defekte oder Inhomogenität. Beim B50 hingegen waren auf der Oberfläche noppenartige Strukturen zu erahnen. Generell musste hier sowohl die Ober- als auch die Unterseite beachtet werden. Dabei traten innerhalb eines Ansatzes und bei einem neuen Ansatz relativ identische Strukturen auf und damit bestand eine Reproduzierbarkeit. Diese strukturellen Besonderheiten sollten mittels optischer Lichtmikroskopie untersucht werden.

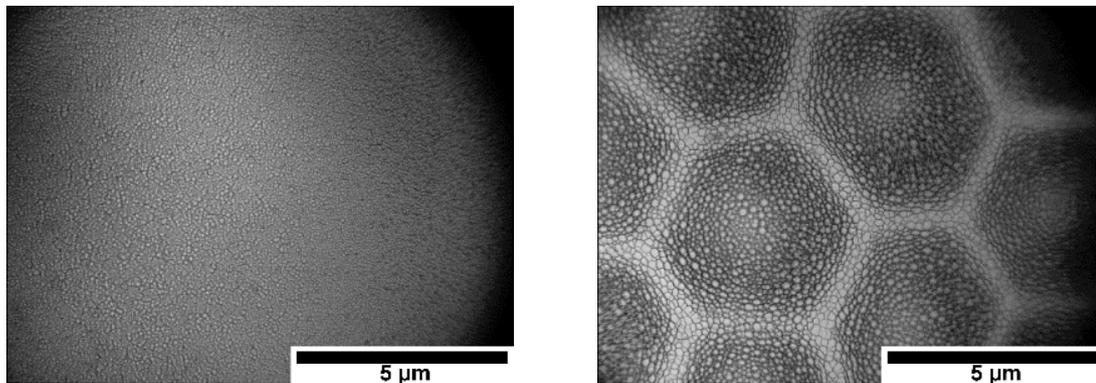
Beim B10 war auch mit Verwendung dieser Methode keine Struktur o.Ä. zu dokumentieren. Beim B50 dominierten die erwähnten Noppen in Form von feinen waben-artigen Strukturen von ca. 5  $\mu\text{m}$  das Bild (Abbildung 4.1. 13 links).



**Abbildung 4.1. 13:** Aufnahmen der optischen Lichtmikroskopie von der Oberfläche des B50s. Links – Aufnahme aus der Mitte der Oberfläche; Rechts - Aufnahme vom Rand.

Diese Waben setzen sich aus kleineren Maschen  $< 1 \mu\text{m}$  zusammen. Mittig ist ein freier Bereich zu erkennen und eine Umrandung der Waben mit weniger dicht gepackten maschenähnlichen Strukturen schließt das Erscheinungsbild ab. Am Rand des Hydrogels scheinen diese Strukturen zu „verschmieren“ (Abbildung 4.1. 13 rechts). Hier ist vorrangig ein feinmaschiges Netzwerk im Nanometerbereich zu erkennen. Jedoch ist das kreisförmige Zentrum auch hier schon zu beobachten. Um dies näher verifizieren zu können wurde die Strukturbildung direkt nach der Synthese dokumentiert. Direkt nach der Synthese konnte auf der Oberfläche keine Struktur beobachtet werden. Erst nach Zugabe von 2 mL Reinstwasser waren länglich orientierte, sehr feine Wabenmuster zu erkennen. Nach 1 h schienen schon erste Orientierungsprozesse stattgefunden zu haben. Auch größere Aggregatbildungen waren

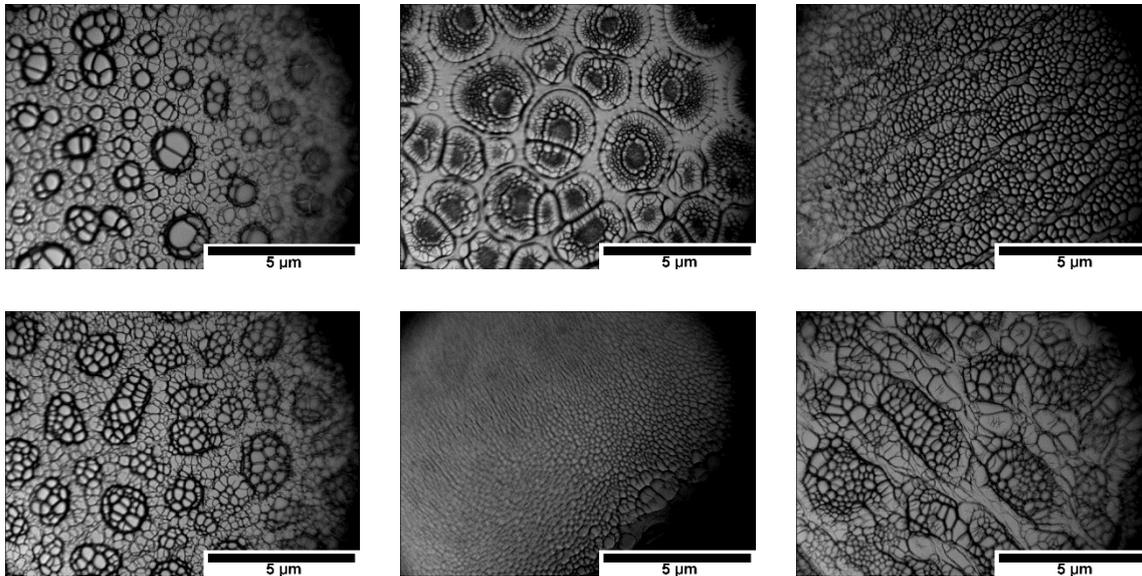
zu erkennen. Eine zunehmende Trübung des Gels erschwerte die Dokumentation des Strukturverlaufs. Lediglich in der Mitte war das Gel verhältnismäßig klar. Nach ein paar Stunden konnten schon grobe Orientierungen erkannt werden. Dennoch traten auch Bereiche auf, in denen keine generelle Struktur beschrieben werden konnte. Nach einem Tag war die Oberfläche recht gleichmäßig strukturiert (Abbildung 4.1. 14 links).



**Abbildung 4.1. 14:** Aufnahmen der optischen Lichtmikroskopie von der Oberfläche des B50s. Links – nach 1 d in Reinstwasser; Rechts – nach 2 d in Reinstwasser.

Erst nach zwei Tagen konnten Warben erkannt werden (Abbildung 4.1. 14 rechts). Zum Rand hin wurden diese eher länglich und gingen in Wabennetze über. Dies änderte sich in den nächsten drei Tagen nicht gravierend. Bis zum neunten Tag waren keine gravierenden Veränderungen erkennbar, außer dass die Bereiche zwischen den Warben deutlicher hervortraten. Auffällig waren auch die etwas helleren Bereiche direkt in der Mitte der Wabe. Es wäre möglich, dass hier bereits der Prozess des Zusammendrückens stattfand. Die Ausbildung von Noppen erfolgte dann mit zunehmender Zeit in Reinstwasser. Auszuschließen ist daher ein Effekt von partieller Oberflächenaustrocknung als Ursache. Hypothetisch kommt es zur Ausbildung aufgrund einer rigiden und stark vernetzten Oberfläche, welche der Umorientierungsprozessen und den Quellvorgängen nicht flexibel entgegenwirken kann. Lokalen Spannungsdomänen wird dann in Form der Noppenbildung entgegengewirkt.

Die Strukturen auf der Oberfläche des B100 waren weitaus filigraner, aber auch inhomogener als beim B50. Es ist lediglich möglich häufiger auftretende Strukturen zu beschreiben (Abbildung 4.1. 15).



**Abbildung 4.1. 15:** Exemplarische Strukturen auf der Hydrogeloberfläche des B100s.

Auch die Position auf dem Gel bzw. den Gelseiten variierte zum Teil sehr stark. Trotzdem schienen auch hier starke Orientierungen und Aggregatbildungen möglich. Dazu gehörten „micellenförmige“ Waben (eher mittig auf der Oberfläche), sphärische Aggregate aus mehreren Einzelwaben (eher mittig), längliche Aggregate mit einer Vorzugsrichtung (Übergangsbereiche), und feine Wabenstrukturen (Rand und mittig je nach Gelseite). Dabei waren diese Strukturen im Mikrometerbereich. Besonders die Ausbildung von mizellenähnlichen Strukturen spricht für eine lokale Phasenseparation und damit Domänenbildung. Die zeitabhängige Analytik der Oberfläche nach der Synthese zeigte, dass die vorherrschende Struktur ein feinmaschiges Netzwerk im Nanometerbereich, vergleichbar mit der Struktur des B50, umfasste. Die Trübung des Hydrogels erschwerte die Bildaufnahme. Am 9. Tag kam es vermehrt zum Verschwinden der Trübung. An diesen Stellen konnten jetzt die micellenförmigen Bereiche erkannt werden. In den getrübbten Bereichen schien die Struktur wenig verändert.

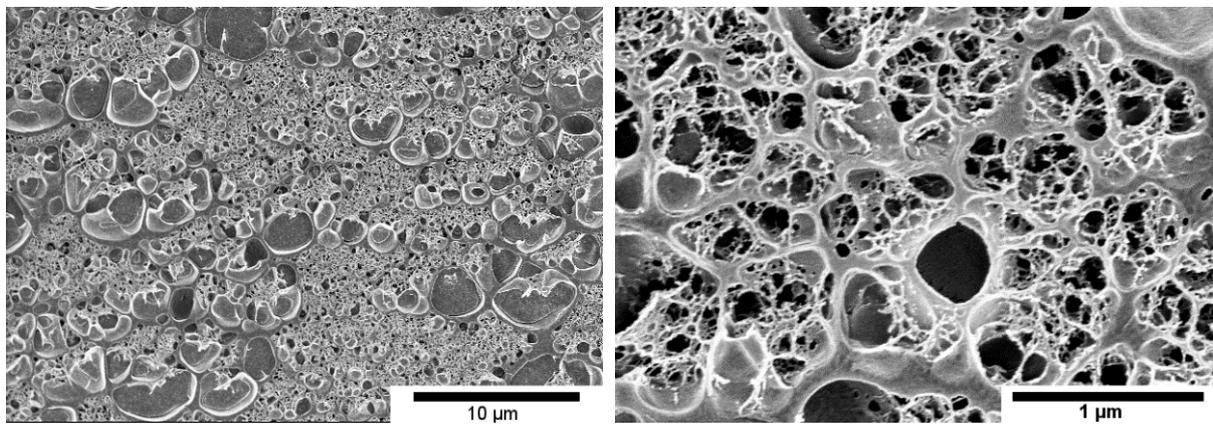
Die Strukturen, welche in Reinstwasser beschrieben werden konnten, waren nicht mehr zu erkennen, wenn das Medium gegen 0,1 M  $\text{CaCl}_2$  Lösung ausgetauscht wurde. Dagegen konnten neue Strukturen beschrieben werden, diese waren aber noch deutlich unregelmäßiger. Eine Aufnahme der Strukturen war nur bedingt und mit schlechter Qualität möglich. Vereinzelt konnten nur Aggregate erkannt werden, aber im Gesamtbild der Oberfläche erschien hier keine Regel erfassbar.

Die Oberflächenbeschaffenheit bezüglich hydrophiler oder gar hydrophober Eigenschaften wurde mittels Olivenöl-Tröpfchen auf dem Hydrogel im

Gleichgewichtsquellzustand und auf dem Xerogel getestet. Der Öltropfen verteilte sich in beiden Fällen auf der Oberfläche ohne erkennbaren Kontaktwinkel im Bereich des menschlichen Auges. Ein direktes Aufsaugen der Flüssigkeit war jedoch nicht geschehen. Dies war ebenfalls bei der Auftragung eines Wassertropfens zu beobachten. Lediglich beim Xerogel wurde der Tropfen ins Gelinnere überführt. Daher können hier keine direkten Aussagen über Hydrophilie oder Hydrophobie der Oberfläche und damit Struktur der Seitenketten an der Oberfläche getroffen werden.

### **Netzwerkstruktur mittels Kryo-REM**

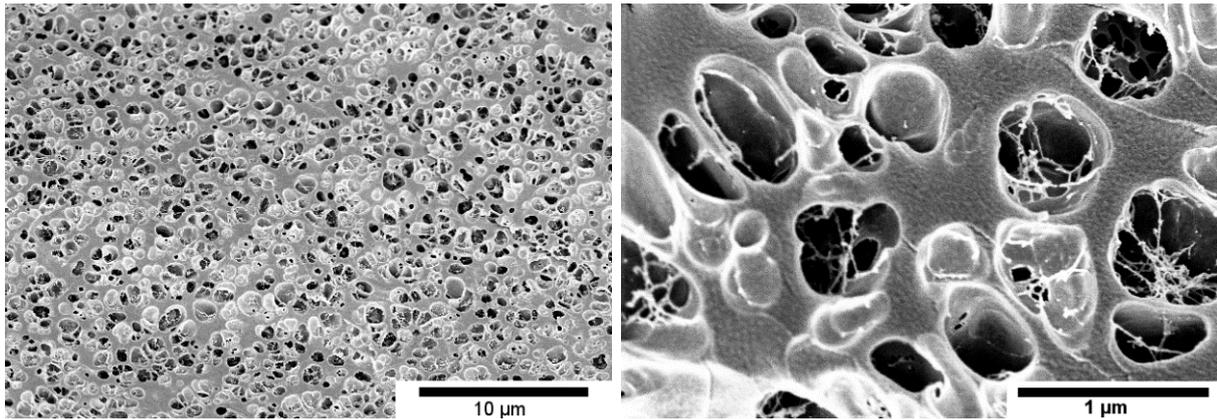
Die bildgebende Analytik des Netzwerks wurde mittels Kryo-REM durchgeführt. Vorteil ist hier die Möglichkeit das Hydrogel direkt im Gleichgewichtsquellzustand zu vermessen. In Abbildung 4.1. 16 sind Aufnahmen des Hydrogels B10 gezeigt.



**Abbildung 4.1. 16:** Kryo-REM Aufnahmen des Hydrogels B10. Links – Maßstab 10 µm; Rechts – Maßstab 1 µm.

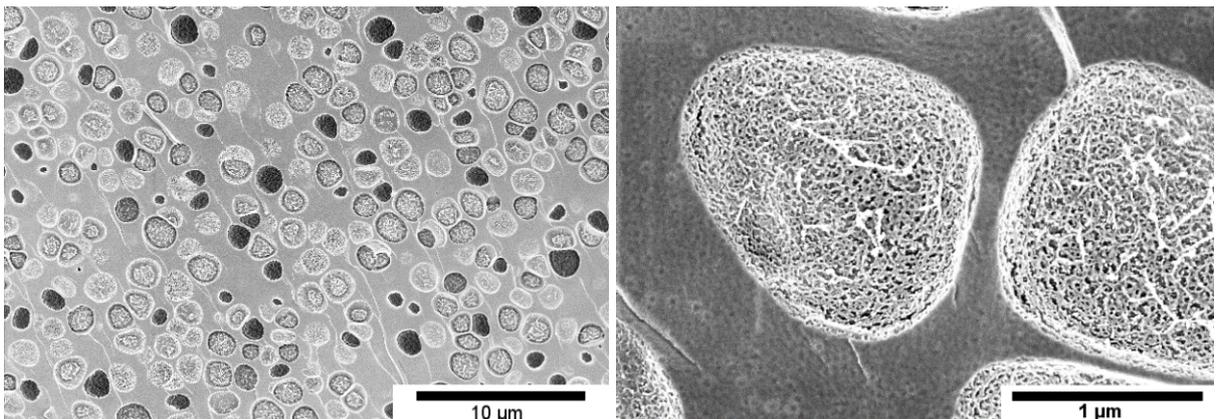
Das Netzwerk von B10 setzt sich aus einem Geflecht verschieden großer sphärischer Löcher bzw. porenähnlicher Strukturen zusammen. Ein Großteil ist dabei ca. 1-5 µm groß. Inhomogen verteilt treten Hohlräume mit einem Durchmesser von bis zu 10 µm auf. In den einzelnen Poren ist ein dichtes Netzwerk aus faserähnlichen Strukturen mit einer variablen Dicke von 0,03 - 0,3 µm enthalten. Die dazugehörigen Maschen sind ca. 0,1 – 0,5 µm groß.

Das Netzwerk von B50 zeigt eine andere Zusammensetzung (Abbildung 4.1. 17). Porenähnliche Hohlräume im Bereich von 2 µm liegen homogen verteilt im Material vor. Auch innerhalb der Poren lassen sich weitere Strukturen in Form von fadenförmigen Gebilden nur erahnen. Einzelne Poren sind durch ein dichtes und kompaktes Material miteinander verbunden. Darauf ist eine Strukturinhomogenität zu vermuten, welche sich aber jenseits der Auflösungsgrenze befinden.



**Abbildung 4.1. 17:** Kryo-REM Aufnahmen des Hydrogels B50. Links – Maßstab 10 µm; Rechts – Maßstab 1 µm.

Das Netzwerk von B100 besitzt eine geringere Anzahl an Poren, welche jedoch eine relativ homogene Größenverteilung im Bereich von 2 µm aufweisen (Abbildung 4.1. 18). Folglich ist das dichte Material zwischen den einzelnen Poren deutlicher ausgeprägt. Auch hier sind Strukturen auf dem Material zu erahnen. Die Hohlräume sind mit einem dichten faserähnlichen Netzwerk im nm-Bereich gefüllt, jedoch sind einzelne Fasern nicht zu beobachten.



**Abbildung 4.1. 18:** Kryo-REM Aufnahmen des Hydrogels B100. Links – Maßstab 10 µm; Rechts – Maßstab 1 µm.

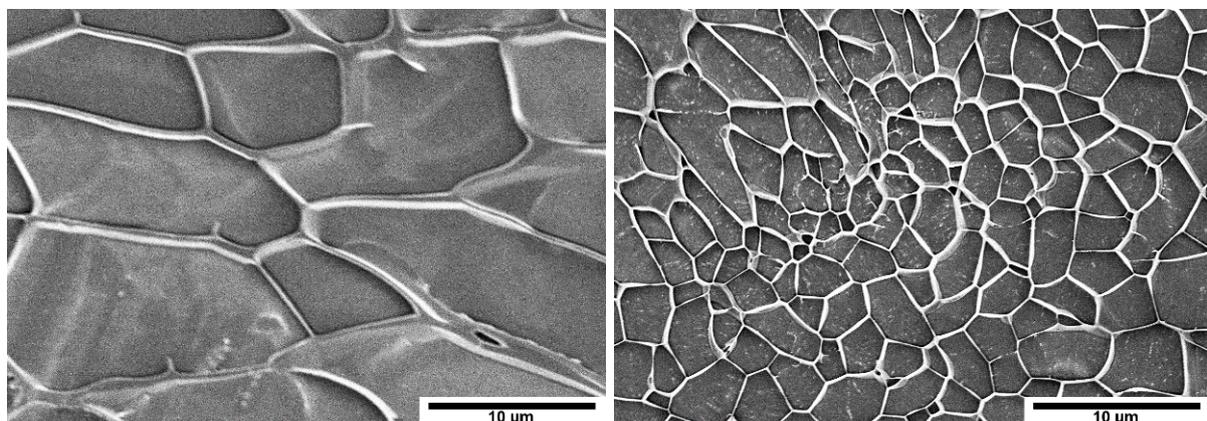
Zusammenfassend lassen sich für die Hydrogele der B-Reihe folgende Tendenzen formulieren. Zum einen nimmt der Anteil an dichter Phase zwischen den Poren mit dem Anteil des Vernetzers ab. Zum anderen erhöht sich der Anteil an faserähnlichen Strukturen mit dem Anteil des Vernetzers. Jedoch steigt die inhomogene Verteilung der Poren und ihrer Größen mit dem Vernetzeranteil.

Diese Netzwerkstruktur und deren Tendenzen in Bezug auf den Anteil des Vernetzers unterstützen zunächst die makroskopischen Beobachtungen bezüglich der mechanischen Eigenschaften. B10 ist mechanisch fester und spröde. Die inhomogene Struktur und das dichte faserähnliche Netzwerk schränken die Flexibilität ein. Wohingegen homogene Porenstrukturen und Strukturen zwischen den Poren das Material B50 und B100 elastischer machen.

Erklären lässt sich die Struktur des Netzwerks anhand der gewählten Polymerisationsstrategie. Die freie radikalische Polymerisation ohne Kontrolle führt durch die Propagation zu immer längeren Polymerketten mit willkürlich verteilten Quervernetzungen. Trotz struktureller Analogien des Vernetzers und des Monomers kann nicht von der Möglichkeit einer perfekt alternierenden Copolymerisation ausgegangen werden. Diese kann schon alleine aufgrund des ungleichen Verhältnisses in der Vorläuferlösung nicht realisiert werden. Außerdem ist TMBEMPA/Br größer als das SPE. Darauf aufbauend können folgende Hypothesen bezüglich der Struktur getroffen werden:

- Poren bilden sich infolge repulsiver Wechselwirkungen, welche verstärkt im B10 zu beobachten sein müssten.
- Poren entstehen durch lokale Phasenseparation von Monomer und Vernetzer.
- Die dichte Phase zwischen den Poren setzt sich aus dicht gepackten SPE Homopolymeren mit geringem Anteil an Verzweigungen zusammen.
- Das Netzwerk innerhalb der Poren besitzt eine intermediäre Zusammensetzung bezüglich Anteile des SPEs und des Vernetzers und stellt damit eine Zwischenphase da.
- Die Strukturgröße steht im Widerspruch zur kompletten Transluzenz. Eine mögliche Erklärung kann hier ein vergleichbarer Brechungsindex des Polymernetzwerks und des umgebenen H<sub>2</sub>O sein.

Außerdem konnte der Einfluss der Monomere auf die Netzwerkstruktur analysiert werden. Das Netzwerk des S10s (Abbildung 4.1. 19 links) setzt sich aus einem Wabengeflecht im Bereich von 30 µm im Durchmesser zusammen. Die Form ist dabei nicht einheitlich, wird aber von einer Art „Wand“ umschlossen. Außerdem ist keine vollständige Durchdringung der Waben im Material zu erkennen. Analog ist das Netzwerk des T10s aufgebaut (Abbildung 4.1. 19 rechts). Die Waben sind lediglich mit ca. 10 µm im Durchmesser kleiner als die des S10s.

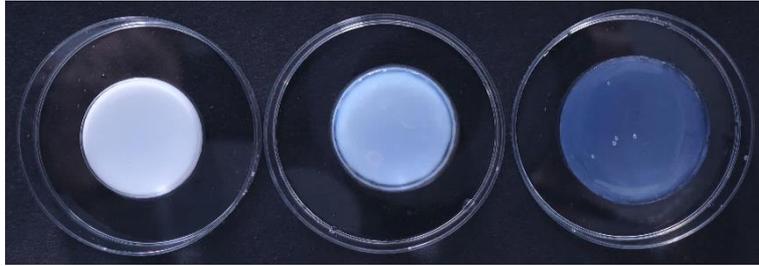


**Abbildung 4.1. 19:** Kryo-REM Aufnahmen vo Hydrogelen. Links – S10; Rechts – T10.

Zur Erklärung der Struktur können nicht ausschließlich elektrostatische Wechselwirkungen herangezogen werden. Wenn dies der Fall wäre, müssten die Waben des T10s größer sein als die des S10s, da hier ausschließlich repulsive Wechselwirkungen zu finden sein können. Attraktive Wechselwirkungen im S10 müssten die Waben verkleinern. Höchstens eine starke Homopolymerisation des SPMs mit geringer Copolymerisation mit dem Vernetzer würde eine starke repulsive Wechselwirkung und damit verbreiterte Poren im S10 erklären. Mit Bezug auf die ermittelten Gelierungszeiten (vgl. Kapitel 4.1.1) ist jedoch eine Verkleinerung der Poren beim T10 zu erklären. Die Polymerisation zur Bildung des T10s findet bedingt durch die repulsiven Wechselwirkungen und der Elektronendichte am Stickstoff zeitlich verzögert statt. Folglich ist eine höhere Ordnung als beim S10 möglich. Die Waben stellen also ein Optimum aller Wechselwirkungen dar, wodurch diese, mit Bezug auf Größenverhältnisse, homogener wirken. Festzustellen ist jedoch, dass keine durchdringenden Poren und kein faserähnliches Geflecht wie im B10 zu beobachten ist. Dies bestätigt die Annahme, dass diese durch das SPE hervorgerufen werden.

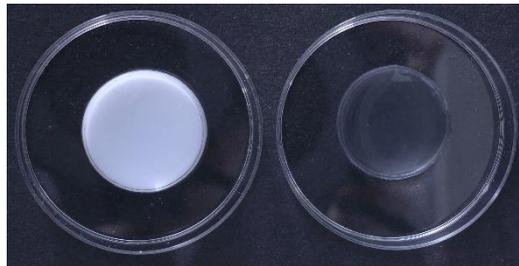
Generell bestätigen aber auch diese Netzwerke die mechanischen Eigenschaften. S10 mit den höchsten Modulen und komplexen Viskosität ist fest und spröde. Die großen Waben, ohne interpenetrierend zu sein, sind zu starr und neigen bei mechanischer Beanspruchung zum Bruch. T10 ist etwas weicher mit geringeren Modulen, da die vielen kleineren Waben flexibler zu sein scheinen. Es ist jedoch anzumerken, dass alle Hydrogele trotz Strukturen im Mikrometerbereich transparent erscheinen. Dies kann nur hypothetisch über einen ähnlichen Brechungsindex von Polymernetzwerk und dem H<sub>2</sub>O erklärt werden.

Eine weitere Besonderheit, welche mittels Kryo-REM aufgeklärt werden konnte, bezieht sich auf die Hydrogele der B-Reihe. Im Anschluss an die Synthese wurden die zunächst transparenten Gele mit Reinstwasser gewaschen. Bereits nach wenigen Minuten kommt es zur Trübung der Gele, welche über Nacht noch weiter verstärkt wird. Diese ist abhängig vom Vernetzeranteil im Hydrogel. In Abbildung 4.1. 20 ist dies gezeigt. Das B100 ist dabei komplett weiß, wohingegen das B10 nur einen bläulichen Schimmer aufweist, welcher auf den Tyndall Effekt zurückzuführen ist. Dieser beschreibt die Streuung von Licht an Partikeln in der Größenordnung der Lichtwellenlänge. Die Trübung spricht zunächst für eine untere kritische Lösungstemperatur (UCST).



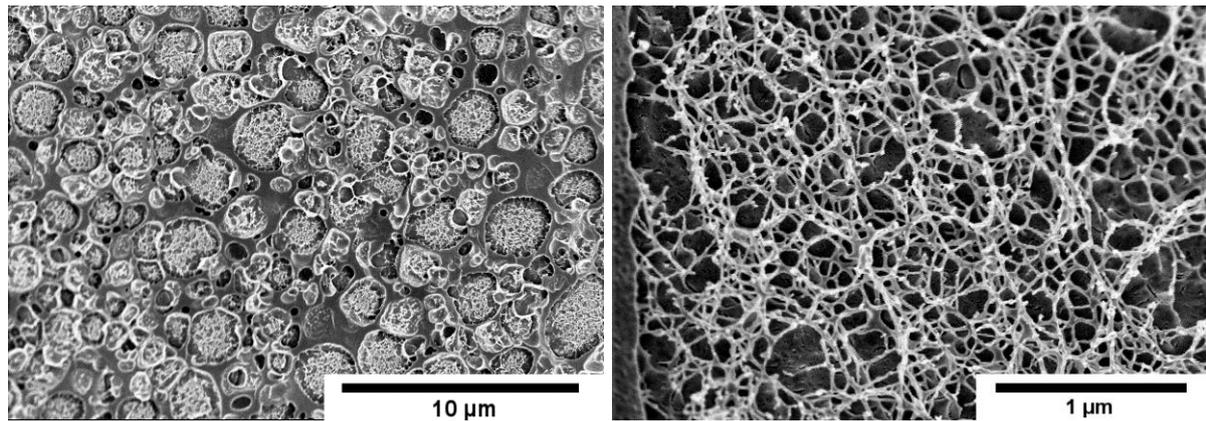
**Abbildung 4.1. 20:** Eigenes Foto vom 21.03.2019 zur auftretenden Trübung der Hydrogele B100 (links), B50 (Mitte) und B10 (rechts) nach Lagerung für 24 h in Reinstwasser nach der Synthese. Durchmesser der Gele beträgt 2,7 - 3,4 cm.

Nach ca. vier Wochen in Reinstwasser bei Raumtemperatur sind dann alle drei Geltypen transparent. Dies ist am Beispiel des B100 in Abbildung 4.1. 21 gezeigt. Gemäß Van't Hoff'scher Regel ist durch Temperaturerhöhung die Reduzierung der Trübung zu beschleunigen.



**Abbildung 4.1. 21:** Eigenes Foto vom 21.03.2019 der Hydrogele B100. Getrübtes B100 nach Lagerung von 24 h in Reinstwasser nach der Synthese (links) und transparentes und farbloses B100 nach Lagerung von vier Wochen in Reinstwasser. Der Durchmesser der Hydrogele beträgt dabei ca. 2,7 cm.

Betrachtet man die Netzwerkstruktur mittels Kryo-REM können auch Unterschiede ermittelt werden (Abbildung 4.1. 22). Die weißen Gele weisen dabei Porenstrukturen im Bereich von 3  $\mu\text{m}$  auf. Darin ist ein filigranes Netzwerk mit einer ungefähren Maschenweite von 100 nm zu erkennen. Im Vergleich dazu sind nach ca. vier Wochen diese Kompartimente lediglich 2  $\mu\text{m}$  groß und das Netzwerk innerhalb ist nicht mehr zu erkennen. Des Weiteren treten Bereiche im Mikrometerbereich zwischen den Poren auf. Diese waren vorher nicht vorhanden (vgl. Abbildung 4.1. 18).



**Abbildung 4.1. 22:** Kryo-REM Aufnahmen des getrübbten Hydrogels B100. Links – Maßstab 10 µm; Rechts – Maßstab 1 µm.

Somit scheint während der Alterung eine Umorientierung der Ladungen zu erfolgen, welche zu einer Kollabierung des filigranen Netzwerks führen.

Auch die mechanischen Eigenschaften wurden für diese intermediäre Stufe bestimmt. In Tabelle 4.1. 6 ist der Vergleich von B100 im transparenten Zustand mit dem B100 (weiß) dargestellt.

**Tabelle 4.1. 6:** Zusammenfassung der Ergebnisse der Rheometrie. Darin enthalten das Speichermodul  $G'$ , das Verlustmodul  $G''$ , der Verlustfaktor  $\tan \delta$  und die komplexe Viskosität  $|\eta^*|$  für die Hydrogele B100 nach 24 h in Reinstwasser und nach ca. vier Wochen.

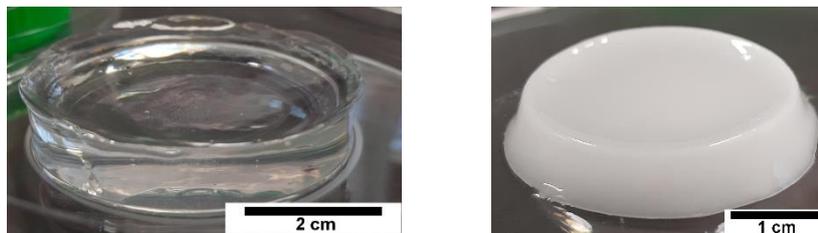
Hydrogel	Speichermodul $G'$ [Pa]	Verlustmodul $G''$ [Pa]	Verlustfaktor $\tan \delta$	Komplexe Viskosität $ \eta^* $ [Pa·s]
B100	2008 ± 136	173 ± 11	0,085 ± 0,010	321 ± 20
B100 (weiß)	2145 ± 164	357 ± 23	0,076 ± 0,007	340 ± 49

Daraus wird ersichtlich, dass alle Werte des weißen Hydrogels in derselben Größenordnung, jedoch etwas höher, liegen. Lediglich der Verlustfaktor ist etwas geringer, was auf den doppelt so hohen  $G''$  zurückzuführen ist. Das System ist also etwas elastischer als das gealterte Gel. Dies resultiert in einer erhöhten Flexibilität, welche die Umorientierung zum transparenten System ermöglicht.

Neben der Strukturellen Analytik wurde diese Umorientierung in Bezug auf thermische Eigenschaften und Medienabhängigkeit analysiert.

### Induzierte Trübung unter Berücksichtigung der Hofmeister Serie

Die zuvor strukturell und mech. analysierte Trübung konnte durch eine Temperaturveränderung initiiert werden. Dabei trat die Trübung auf, wenn das Hydrogel zunächst auf 70°C erwärmt und danach auf RT abgekühlt wurde. Außerdem war dies abhängig von verschiedenen Salzen im Quellmedium. Die Konzentrationen der Salzlösungen wurden über erste Überblicksexperimente eingegrenzt. Dabei zeigte sich, dass erst ab einer Salzkonzentration von 0,5 mol/L eine sichtbare Trübung des Hydrogels zu beobachten ist. Anhand des Beispiels B100 soll dies näher erläutert werden. Wie in Abbildung 4.1. 23 ersichtlich wird eine Trübung hervorgerufen, wenn das Hydrogel zunächst in einer 0,5 mol/L Lösung von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  gequollen, auf 70°C erwärmt und anschließend auf RT abgekühlt wurde. Hingegen zeigten Hydrogele in 0,5 mol/L  $\text{CaCl}_2$ -Lösung gequollen keine Veränderung des Materials und in  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Lösung war lediglich ein leicht bläulicher Schimmer auszumachen (Abbildung 4.1. 23).



**Abbildung 4.1. 23:** Eigene Fotos des B100s vom 09.11.2020 bezüglich der Analytik zur induzierten Trübung unter Berücksichtigung der Hofmeister Serie. Links – nach Inkubation in 0,5 mol/L  $\text{CaCl}_2$  Lösung und anschließender Erwärmung auf 70°C; rechts – analog in 0,5 mol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

Um die Abhängigkeit von den Salzlösungen erklären zu können ist ein Blick auf die Hofmeister Serie (lyotrope Reihe) hilfreich (Abbildung 4.1. 24). Diese sortiert Anionen und Kationen bezüglich des Einflusses auf das physikalische Verhalten von Proteinen in wässrigen Lösungen in chaotrop und kosmotrop ein.<sup>219–221</sup> Chaotrope Ionen stabilisieren die Makromolekülkonformation, indem diese die Bildung der  $\text{H}_2\text{O}$  Käfige unterbinden. Das Protein ist in Lösung. Gegenteilig wirken sich kosmotrope Ionen aus, welche zu einer Phasentrennung (auch als Aussalzen bezeichnet) führen. Dabei ist der Einfluss von Anionen höher als der der Kationen.

## Hofmeister Serie



kosmotrop

chaotrop

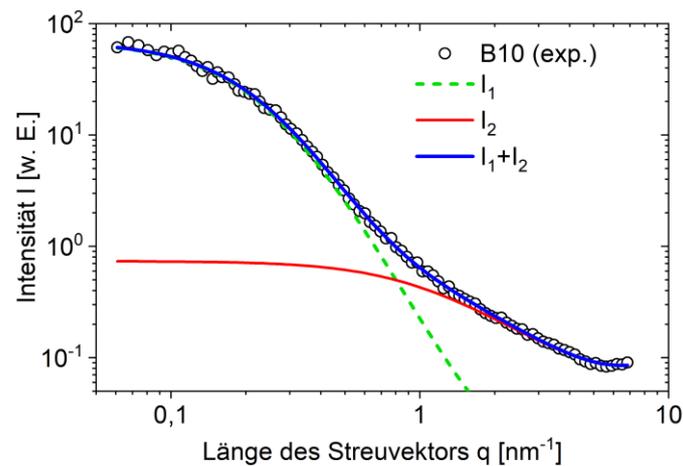
**Abbildung 4.1. 24:** Hofmeister Serie in Anlehnung an W. Kunz.<sup>222</sup>

Nimmt man sich zunächst das Beispiel  $\text{CaCl}_2$  heraus wird ersichtlich, dass das  $\text{Ca}^{2+}$ -Ion eher chaotrop und das  $\text{Cl}^-$ -Ion neutral mit leichter Tendenz zum kosmotropen ist. In der Summe liegt ein eher neutrales Salz vor, welches keine direkte Auswirkung auf die Löslichkeit hat.

Das  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  hingegen besitzt mit  $\text{Na}^+$ -Ionen einen neutralen mit Tendenz zum chaotropen Einfluss und das  $\text{HPO}_4^{2-}$ -Ion ist stark kosmotrop. In der Folge findet eine Phasentrennung statt, welche als Trübung des Hydrogels erkennbar wird. Diese induzierte Trübung ist reversibel und in beliebigen Zyklen wiederholbar. Beim  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  befindet sich das Gleichgewicht eher auf der Seite des  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ -Ion. Somit liegt im Gleichgewicht ein geringer Anteil des kosmotropen  $\text{HPO}_4^{2-}$ -Ions vor. Eine Trübung des Materials ist daher nicht zu erkennen. Der bläuliche Schimmer ist jedoch auf den kosmotropen Effekt zurückzuführen und über den Tyndall Effekt zu erklären. Zudem führt die  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Lösung zu einer Zunahme des Durchmessers. Daher ist eine verstärkte Komplexierung hier nicht zu erkennen. Generell erfüllt das Hydrogel B100 jedoch die empirisch aufgestellte Hofmeister-Serie. Somit kann nachgewiesen werden, dass B100 und B50 zeitlich bzw. temperaturbegrenzte UCST Verhalten zeigen.

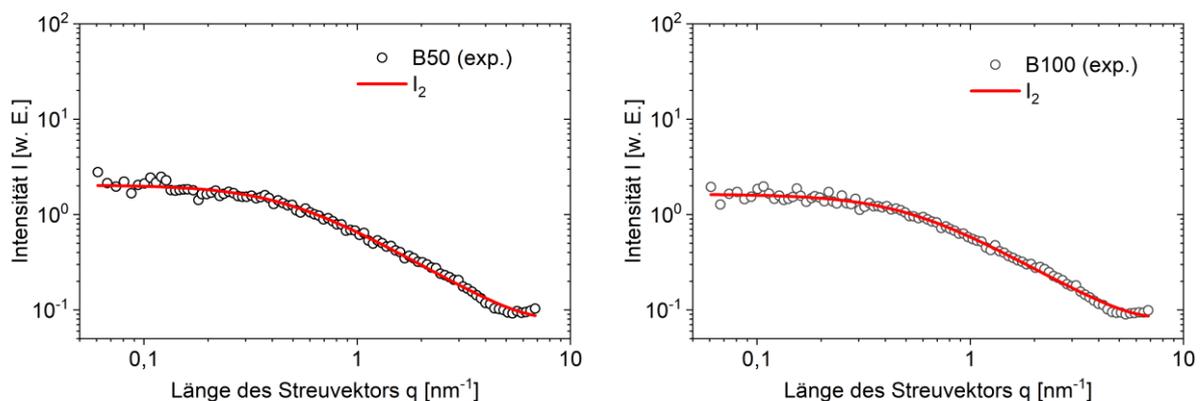
### Netzwerkanalytik mittels SAXS

Trotz hoher Auflösung im Bereich weniger Nanometer, mit einem Kryo-REM können Strukturen nicht immer vollständig aufgelöst werden. Die Tiefenschärfe ist stärker begrenzt. Außerdem ist eine Unterscheidung von Strukturen nur bei ausreichend Kontrast möglich. Erkennbar ist dies in den zuvor gezeigten Kryo-REM Bildern anhand der unregelmäßigen Schattierung auf dem Polymernetzwerk. Daher sollten ergänzende Messungen mittels Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS) Strukturen im Bereich von 1-100 nm beschreiben.<sup>223</sup> In der nachfolgenden Abbildung werden die entsprechenden SAXS Daten und die dazugehörigen Fit Anpassungen mittels generalisierter Ornstein-Zernike Methode gezeigt.



**Abbildung 4.1. 25:** SAXS des Hydrogels B10. Enthalten sind dabei die aufgenommenen SAXS Daten (schwarz umrandete Kreise) und die Fit Kurven der generalisierten Ornstein-Zernike Methode. Im Falle des B10 sind Einflüsse von zwei Streuintensitäten zu erkennen. Details sind den theoretischen Grundlagen und dem Experimententeil zu entnehmen.<sup>6</sup>

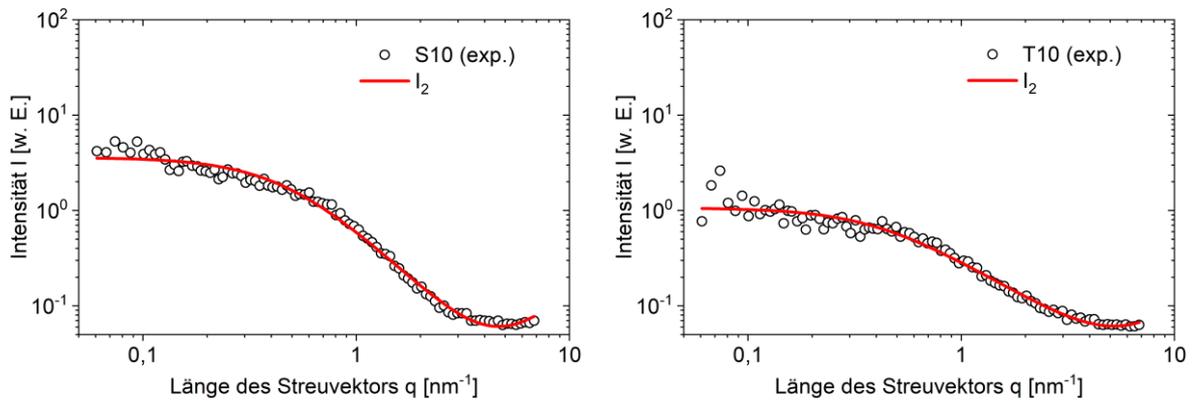
Im Kapitel 2.3.3 zu den theoretischen Grundlagen der SAXS wurde bereits auf die zwei Anteile der Streuintensitäten eingegangen, worauf an dieser Stelle nochmals verwiesen sei. Am Beispiel B10 ist diese Aufteilung als einziges nachzuweisen (Abbildung 4.1. 25). Die Intensität  $I_1$  (grün) bildet dabei das Verhalten bei geringer Länge des Streuvektors  $q$  ab und korreliert mit der räumlichen Vernetzungsinhomogenität. Die Intensität  $I_2$  (rot) für die dynamische Inhomogenität beschreibt das Verhalten bei hohem  $q$ . Daher ist für die vollständige Beschreibung der experimentellen Daten eine Kombination erforderlich (blau). Im Gegensatz dazu kann die Streueigenschaft der Hydrogele B50 und B100 mit lediglich einem Beitrag der Intensität  $I_2$  (rot) beschrieben werden (Abbildung 4.1. 26).



**Abbildung 4.1. 26:** SAXS der Hydrogele der B-Reihe. Enthalten sind dabei die aufgenommenen SAXS Daten (schwarz umrandete Kreise) und die Fit Kurven der generalisierten Ornstein-Zernike Methode.

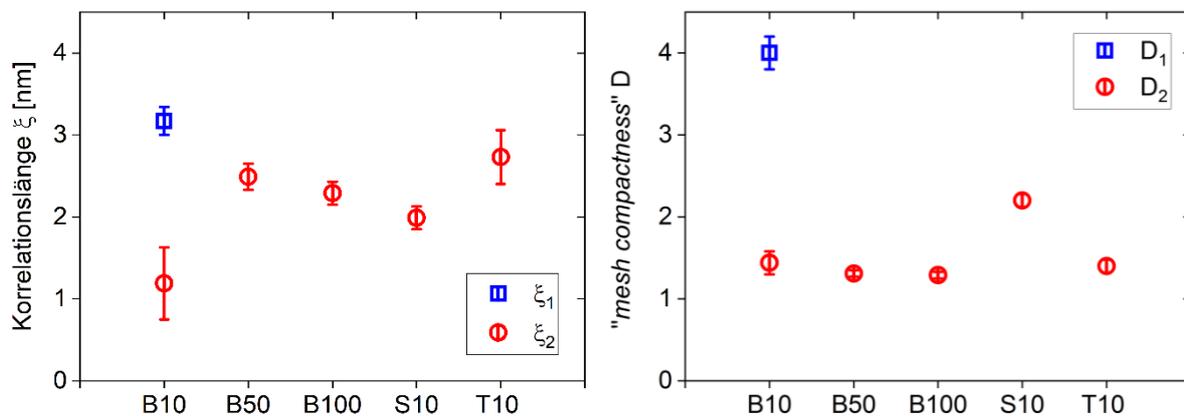
<sup>6</sup> Auswertung der Messdaten zur Darstellung dieser und nachfolgender Abbildungen in diesem SAXS Abschnitt erfolgte durch A.F. Thünemann.

Dies trifft ebenfalls auf das Streuverhalten der Hydrogele S10 und T10 zu (Abbildung 4.1. 27). Eine Aufteilung ist auch hier nicht notwendig.



**Abbildung 4.1. 27:** SAXS der Hydrogele S10 (links) und T10 (rechts). Enthalten sind dabei die aufgenommenen SAXS Daten (schwarz umrandete Kreise) und die Fit Kurven der generalisierten Ornstein-Zernike Methode.

Mit Hilfe der generalisierten Ornstein-Zernike Gleichung lassen sich aus dem Verlauf dieser Streuintensitäten die Korrelationslängen  $\xi$  und der Parameter zur „mesh compactness“  $D$  berechnen. Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Abbildung 4.1. 28 zusammengefasst.



**Abbildung 4.1. 28:** Charakteristische Korrelationslängen (Maschenweiten  $\xi$ ) und die „mesh compactness“  $D$ . Bestimmt wurden diese mit Hilfe der generalisierten Ornstein-Zernike Methode. Details sind den theoretischen Grundlagen und dem Experimentalteil zu entnehmen.

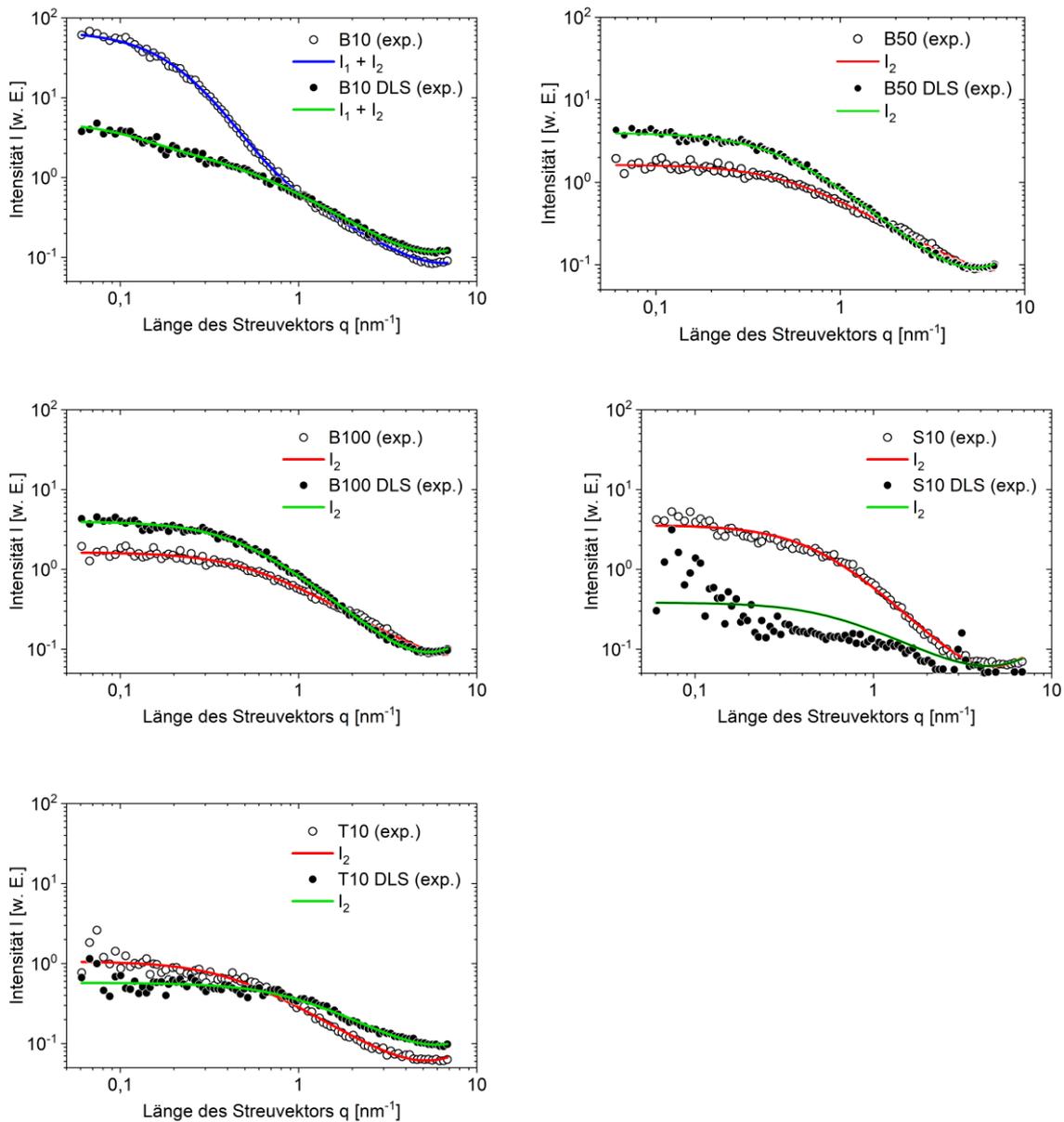
Für das Streuverhalten von B10 ergeben sich damit zwei unterschiedliche Maschentypen mit einer Korrelationslänge von  $\xi_1 = 3,17 \pm 0,21$  nm und  $\xi_2 = 1,18 \pm 0,45$  nm. Im Kontext der Netzwerkanalyse ist damit die Maschenweite gemeint. Außerdem kann durch das Intensitätsverhältnis beider Komponenten von 94 illustriert werden, dass die Masche Typ 1 um zwei Größenordnungen stärker streut als Masche Typ 2. Des Weiteren kann die „mesh compactness“  $D$  berechnet werden. Auch hier wurden zwei Werte für  $D_1 = 4,0 \pm 0,22$  und

$D_2 = 1,44 \pm 0,15$  ermittelt. Ein Wert von  $D = 4$  impliziert ein Verhalten, welches durch Debye-Büchle beschrieben werden könnte. Zudem deutet der hohe Wert dichte vernetzte Bereiche der Masche Typ 1 an. Solche Vernetzungen weisen hohe Streukontraste auf, weshalb starke Streuintensitäten erzeugt werden. Außerdem weist dies auf eine stationäre Inhomogenität hin. Der geringere Wert  $D_2$  unterhalb von 2,0 deutet auf einen geringeren Anteil an Vernetzungspunkten innerhalb der Masche Typ 2 hin. Dies spricht für eine dynamische Inhomogenität. Zusammengenommen deuten diese Parameter auf lokal stark vernetzte Bereiche hin, die sich durch starke stationäre und schwache dynamische Konzentrationsfluktuationen auszeichnen.

Für das B10 ist aufgrund der zwei ermittelten Werte von  $D$  (2,0 und 4,0) eine isolierte Verwendung der Methode nach Debye-Büchle (für  $D = 4,0$ ) oder Ornstein-Zernike (für  $D = 2,0$ ) nicht möglich. Daher wurde für die Betrachtungen des Streuverhaltens der weiteren Hydrogele zwecks Vergleichbarkeit dieselbe kombinierte Auswertemethode verwendet, obwohl dies nur für das B10 erforderlich wäre.

Im Gegensatz dazu liefert folglich die Modellierung mit einer Streuintensität  $I_2$  für alle weiteren Hydrogele nur einen Wert für  $\xi$  und  $D$ . Die Maschenweiten liegen dabei für alle Hydrogele im ähnlichen Bereich. Für die fehlenden Hydrogele der B-Reihe nimmt diese mit sinkendem Vernetzeranteil von  $\xi_2 = 2,49 \pm 0,16$  (B50) zu  $2,29 \pm 0,14$  nm (B100) ab. Die  $\xi$  für S10 liegt niedriger bei  $1,99 \pm 0,14$  nm und für T10 höher  $2,73 \pm 0,33$  nm. Ein gegensätzlicher Trend kann für  $D$  beschrieben werden. Innerhalb der B-Reihe nimmt dieser mit verringertem Anteil an Vernetzer von  $D_2 = 1,31 \pm 0,04$  (B50) zu  $1,29 \pm 0,04$  (B100) ab. Der Wert für S10 ist hier höher mit  $D_2 = 2,2 \pm 0,08$  und für T10 im gleichen Bereich  $D_2 = 1,4 \pm 0,08$ . Vor allem die Werte für  $D < 2$  sprechen für lose vernetzte Domänen, welche starke dynamische Fluktuationen aufweisen. Dabei scheint T10 vergleichbare Domänen wie die Hydrogele B50 und B100 aufzuweisen. S10 hingegen scheint Domänen zu besitzen, welche stärker vernetzt sind, aber nicht vergleichbar stark wie die Maschen des Typs 1 beim B10.

Mittels SAXS wurden zudem die Hydrogelproben aus den Messungen zur Gelierung mittels DLS verwendet. Die Auswertung erfolgte nach analogen Aspekten, die bereits beschrieben wurden. In Abbildung 4.1. 29 sind alle Vergleiche des Streuverhaltens der bisher beschriebenen Hydrogele mit den Hydrogelen synthetisiert während der DLS-Messung (s. Gelierungszeit) gezeigt.

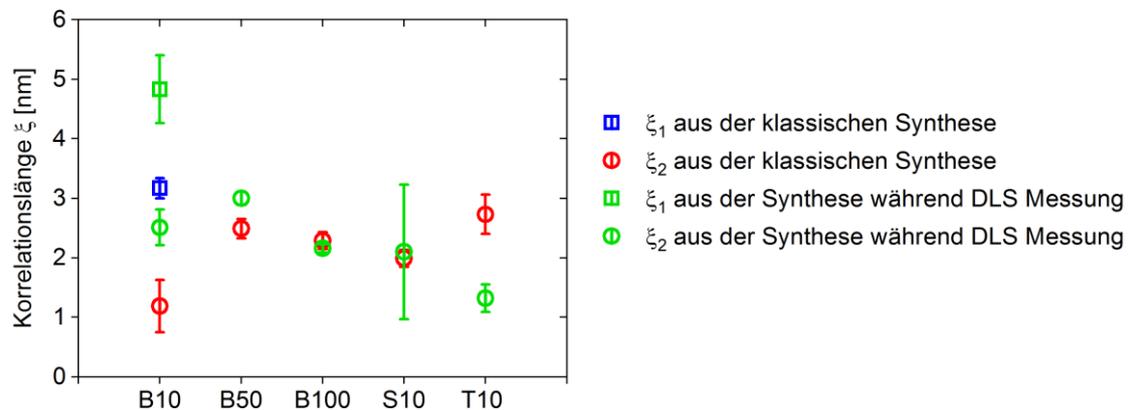


**Abbildung 4.1. 29:** SAXS der Hydrogel der B-Reihe, S10 und T10. Enthalten sind dabei die aufgenommenen SAXS Daten der Hydrogele (schwarz umrandete Kreise) und die der Hydrogele synthetisiert während DLS-Messung (schwarze Kreise). Zudem ist die Modellierung der Daten mittels der generalisierten Ornstein-Zernike Methode (rot bzw. grün) dargestellt. Im Falle des B10 sind Einflüsse von zwei Streuintensitäten zu erkennen. Details sind den theoretischen Grundlagen und dem Experimententeil zu entnehmen.

Daraus wird zunächst ersichtlich, dass die Kurvenverläufe anhand ihrer Form vergleichbar sind. Jedoch sind Unterschiede der Lage bei den einzelnen Hydrogele zu beobachten. Beim B10 ist die Intensität bei kleinem  $q$  höher für das klassische Hydrogel als beim Hydrogel synthetisiert während der DLS-Messung. Ab einem Wert von  $q = 1$  ist ein gegensätzliches Verhalten zu sehen. Außerdem fällt die Kurve der klass. Hydrogele stärker ab. Beim B50 und B100 können ähnliche Tendenzen, aber mit gegensätzlicher Umkehr beschrieben werden. Bei niedrigem  $q$  liegt die Intensität höher für die DLS-Hydrogele. Bei einem  $q > 1$  kommt es dann

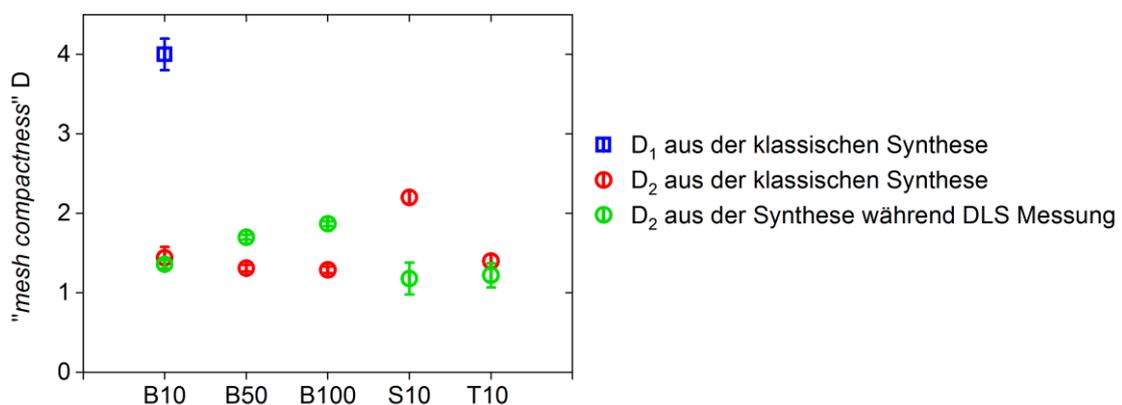
auch hier zur Umkehr. Dennoch ist der Unterschied der Kurven nicht so stark ausgeprägt, wie für die Kurven der B10 Hydrogele. Beim S10 wiederum ist die Intensität der klass. Hydrogele zu Beginn wieder höher. Die Umkehr findet erst bei sehr hohem  $q$  statt. Des Weiteren ist die Modellierung bei kleinem  $q$  für das DLS-Hydrogel ungenügend. Die Streukurven von T10 weisen ähnliche Tendenzen wie die Kurven von B50 und B100 auf. Lediglich die Umkehr ist leicht zu geringerem  $q$  verschoben und die Kurven liegen in umgekehrter Reihenfolge vor.

Für die darauf berechneten Korrelationslängen ergibt sich nun folgendes Bild (Abbildung 4.1. 30). Erneut können zwei Werte und damit zwei Maschen für das B10 ermittelt werden. Für alle anderen ergeben sich wieder nur eine  $\xi$ .



**Abbildung 4.1. 30:** Vergleich der charakteristischen Korrelationslängen (Maschenweiten  $\xi$ ). Bestimmt wurden diese mit Hilfe der generalisierten Ornstein-Zernike Methode.

Beim B10 kann eine Erhöhung auf  $\xi_1 = 4,83 \pm 0,57$  nm und eine Verdopplung des Wertes  $\xi_2 = 2,51 \pm 0,30$  nm beobachtet werden. Für das B50 und S10 sind die Maschenweiten etwas höher mit  $\xi_2 = 3,00 \pm 0,11$  nm (B50) und  $\xi_2 = 2,10 \pm 1,13$  nm (S10). Im Falle des B100s ist keine signifikante Veränderung zu erkennen  $\xi_2 = 2,16 \pm 0,07$  nm. Für das T10 ergibt sich die höchste Abweichung, da  $\xi_2 = 1,32 \pm 0,23$  nm beträgt. Auch D zeigt hier eine Variation (Abbildung 4.1. 31).

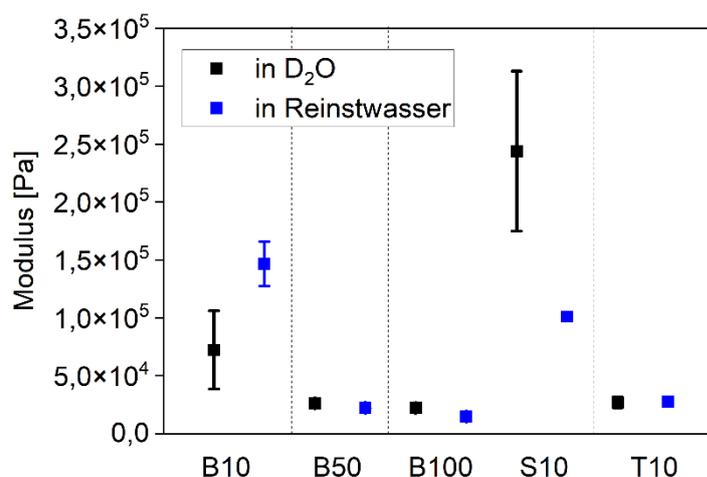


**Abbildung 4.1. 31:** Vergleich der „mesh compactness“ D. Bestimmt wurden diese mit Hilfe der generalisierten Ornstein-Zernike Methode.

So kann in diesem Fall nur ein Wert für  $D_2 = 1,36 \pm 0,05$  (B10) berechnet werden, welcher im vergleichbaren Bereich wie im klass. Hydrogel liegt. Eine zweite Masche mit  $D \approx 4$  ist nicht vorhanden. Zudem sind die Werte für  $D_2$  für die Hydrogele B50 und B100 erhöht. Hier betragen die Werte  $D_2 = 1,70 \pm 0,03$  (B50) und  $D_2 = 1,87 \pm 0,03$  (B100). Für das S10 ist  $D$  fast halbiert  $D_2 = 1,18 \pm 0,20$ , wohingegen sich der Wert bei T10 wieder im ähnlichen Bereich bewegt  $D_2 = 1,22 \pm 0,15$ . Zusammengefasst kann zunächst angenommen werden, dass die Auswirkungen der veränderten Synthesebedingungen keinen grundlegenden Einfluss auf die Hydrogelstruktur im niedrigen Nanometerbereich aufweisen. Es ist aber zu vermuten, dass die Umorientierung bzw. Alterung der Hydrogele beim B10 zu dichten vernetzten Domänen führt. Beim B50 und B100 scheint die Umorientierung zu einer allgemein weniger vernetzten Domäne zu führen. Die repulsiven Wechselwirkungen im S10 scheinen erst mit der Zeit dichtere Bereiche auszubilden. Die attraktiven Wechselwirkungen im T10 scheinen keinen Einfluss auf die Umorientierung zu besitzen. Es ist an dieser Stelle jedoch anzumerken, dass dies ausschließlich Hypothesen bezüglich der Umorientierung sind. Als Grundlage dient hierbei nämlich die Gleichsetzung von Hydrogelen direkt nach der Synthese und Hydrogelen synthetisiert während der DLS-Messung.

### Netzwerkanalytik mittels Niederfeld-NMR

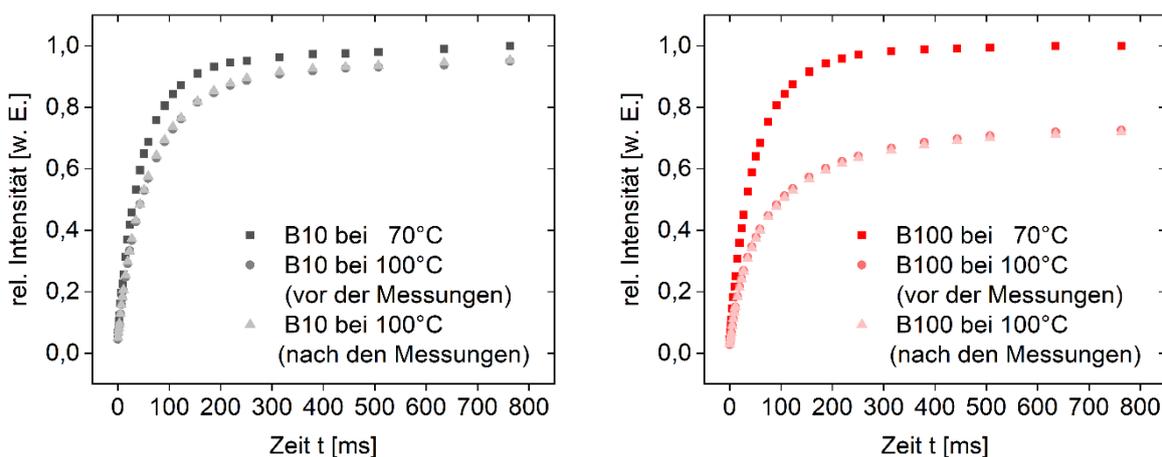
Zur weiteren Analyse des Netzwerks, genauer gesagt der Kettendynamik und der dyn. Inhomogenität, wurden Niederfeld-NMR Messungen durchgeführt. Zur Vorbetrachtung wurden DMA Messungen verwendet. Die erhaltenen Moduli für die Hydrogele synthetisiert in  $D_2O$  (schwarz) wurden mit Hydrogelen synthetisiert in Reinstwasser (blau) verglichen (Abbildung 4.1. 32). Es ist anzumerken, dass nur die Tendenzen nicht aber die Zahlenwerte verglichen wurden, da diese Methode eher ungeeignet für die Vermessung von Hydrogelen ist, eine Alternative jedoch fehlte.



**Abbildung 4.1. 32:** Vergleich der Moduli der Hydrogele synthetisiert in  $D_2O$  (schwarz) und synthetisiert in Reinstwasser (blau).

Daraus lässt sich entnehmen, dass für die Hydrogele B50, B100 und T10 eine gute Übereinstimmung der mech. Eigenschaften besteht. Für das B10 hingegen ist ein Unterschied detektiert worden, jedoch ist auf Basis der hohen Fehlerbalken eine Überlappung möglich. Beim S10 hingegen ist eine Differenz festzustellen. Dem ungeachtet wurden alle folgenden Messungen der Niederfeld-NMR mit den Hydrogelen synthetisiert in D<sub>2</sub>O durchgeführt.

Dabei war die Ermittlung der Temperatur während der Messung der erste Schritt. Verwendet wurden die Temperaturen 30°C, 70°C und 100°C. Bei einer Temperatur von 30°C ist eine Auswertung der Daten nicht uneingeschränkt möglich, da die Kettenmobilität noch eingeschränkt ist. Bei 100°C kann bei einigen Proben bereits die thermische Veränderung der Probe und ein möglicher Verlust des deuterierten Wassers nicht mehr ausgeschlossen werden. Sichtbar wird dies vor allem an den nicht auswertbaren Daten der Einzelerperimente. Zunächst diente die Messung der T<sub>1</sub>-Zeit mittels Sättigungserholungsexperiment (Satrec engl. „*saturation recovery*“) zu Beginn und zum Abschluss der Einzelerperimente als Kontrolle. Dabei zeigte sich, dass sowohl die durchgeführten Einzelerperimente als auch die Zeit keine Verlaufsveränderung der T<sub>1</sub>-Kurve bewirkte. Bei keiner Probe kann hier ein unterschiedlicher Verlauf der Kurve detektiert werden, dennoch variiert die Intensität trotz gleichbleibendem „*gain*“ während der Messung. Am Beispiel des B10s (Abb. Abbildung 4.1. 33 links) und B100s (Abb. Abbildung 4.1. 33 rechts) ist jedoch die generelle Temperaturabhängigkeit von T<sub>1</sub> gezeigt. Dabei zeigt der Kurvenverlauf für das B10 die geringste und für das B100 die höchste Abweichung. Die Unterschiede der Verläufe der anderen Hydrogele sind eher mit dem des B10s zu vergleichen (Anhang A).



**Abbildung 4.1. 33:** Darstellung der Temperaturabhängigkeit ( $T = 70$  bzw.  $100^\circ\text{C}$ ) der Ergebnisse des Satrecs. Links – Am Beispiel B10; Rechts – Am Beispiel von B100. Bei  $100^\circ\text{C}$  wurden jeweils zwei Messungen durchgeführt, wobei eine vor den weiteren nachfolgenden Messungen und eine nach den weiteren Messungen als letztes erfolgte.

Eine temperaturbedingte Veränderung des Hydrogels bei  $100^\circ\text{C}$  ist anhand dieser Kurven zwar nicht zu erkennen, jedoch wurden makroskopische Veränderungen der Probe in Form

von Tropfenbildungen an der NMR-Röhrchenwand festgestellt. Für alle folgenden Messungen soll daher der Schwerpunkt zunächst auf den Messungen bei 70°C liegen.

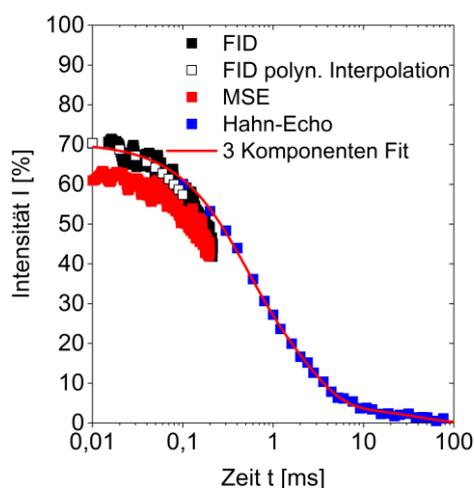
Die Modellierung erfolgte über eine Zweikomponenten Exponentialfunktion (Gl. 45) gemäß der Literatur.<sup>186</sup>

$$y = y_0 + \left( A_1 \cdot \left( 1 - \exp\left(\frac{-x}{T_{11}}\right) \right) \right) + \left( A_2 \cdot \left( 1 - \exp\left(\frac{-x}{T_{12}}\right) \right) \right) \quad (45)$$

mit:  $y$  -  $I_{satrec}(\tau)$ ;  $y_0 = 0$ ;  $A_1$  und  $A_2$  – Signalanteil (Theorie:  $A_1 + A_2 = 100\%$ );  $T_{11}$  und  $T_{12}$  – longitudinale Relaxation  $T_1$  für zwei Komponenten.

Dabei ist anzumerken, dass die Modellierung an einigen Stellen ungenügend ist. Sowohl eine Komponente als auch zwei Komponenten lieferten keine gute Übereinstimmung bzw. physikalisch erklärbare Ergebnisse. Grund hierfür ist möglicherweise eine fehlende dritte Komponente, welche dem Lösungsmittel zugeordnet werden könnte. Daher wurde auf eine Aufteilung verzichtet und lediglich eine Komponente modelliert, wodurch die ermittelten Daten ausschließlich als Richtwert für nachfolgende Experimente angesehen werden sollten. Generell dient die Messung der  $T_1$ -Zeit jedoch der Bestimmung des „*recycling delays*“ für alle folgenden Messungen. Dieser wird mit mindestens  $5 \cdot T_1$  der Polymerkomponente festgelegt.<sup>186</sup>

Zu Beginn erfolgte die Bestimmung der Segmentmobilität der einzelnen Gele. Dazu wurden die FID und Hahn-Echo Abfälle auf einer x-Achse teillogarithmisch dargestellt. Im Experimentalteil (vgl. Kapitel 8.3.3) sind Details bezüglich der Auftragung, Interpolation und Modellierung mittels simultaner Kohlrausch-Williams-Watts (KWW) Gleichung erläutert. Eine Erweiterung des FID wurde mittels „*magic sandwich echoe*“ (MSE) erreicht. Diese Auftragung ist für B10 in der nachfolgenden Abbildung 4.1. 34 gezeigt.

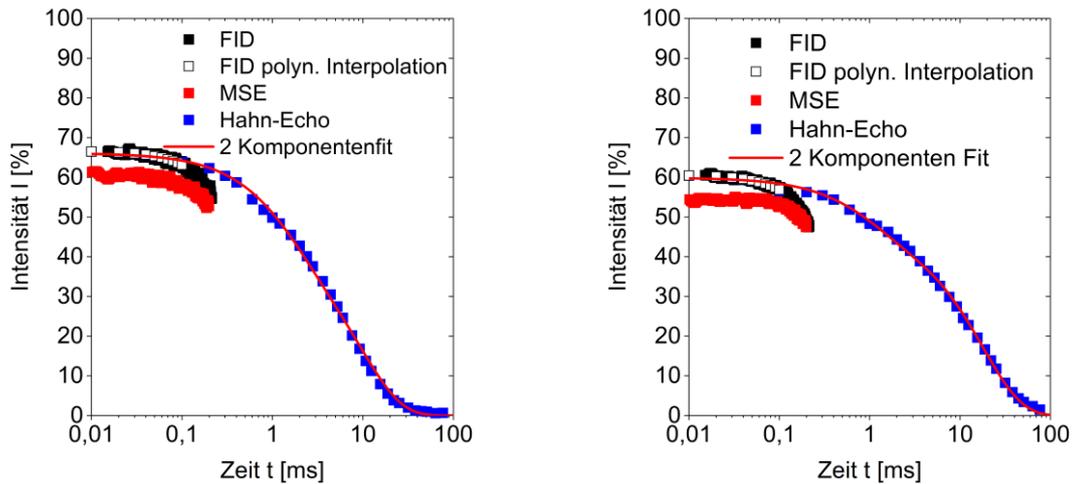


**Abbildung 4.1. 34:** Simultaner Fit (rote Linie) des FID (schwarz) mit Hahn-Echo (blau) von B10 mit MSE Erweiterung (rot) bei 70°C. Dazu wurde der FID als polyn. Interpolation (weiß) verwendet.

Für das Hydrogel B10 ist ein dreikomponentiger Fit zur Beschreibung der Exponentialfunktion notwendig.

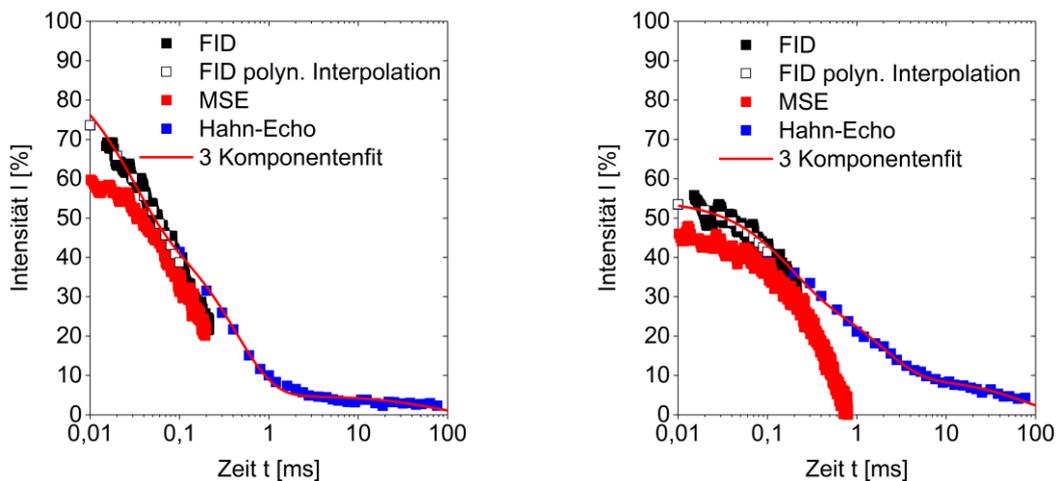
$$y = A_1 \cdot \exp\left(-\left(\frac{x}{t_1}\right)^{b_1}\right) + A_2 \cdot \exp\left(-\left(\frac{x}{t_2}\right)^{b_2}\right) + A_3 \cdot \exp\left(-\left(\frac{x}{t_3}\right)^{b_3}\right) \quad (46)$$

Für die beiden anderen Hydrogele der B-Reihe ist ein zweikomponentiger Fit ausreichend (Abbildung 4.1. 35). Dazu entfällt aus Gleichung 46 der Term  $A_3 \cdot \exp\left(-\left(\frac{x}{t_3}\right)^{b_3}\right)$ .



**Abbildung 4.1. 35:** Simultaner Fit (rote Linie) des FID (schwarz) mit Hahn-Echo (blau) mit MSE Erweiterung (rot) bei 70°C. Dazu wurde der FID als polyn. Interpolation (weiß) verwendet. Links – B50; Rechts – B100.

Für die Hydrogele S10 und T10 ist wiederum ein Fit aus drei Komponenten zur Beschreibung erforderlich (Abbildung 4.1. 36).



**Abbildung 4.1. 36:** Simultaner Fit (rote Linie) des FID (schwarz) mit Hahn-Echo (blau) mit MSE Erweiterung (rot) bei 70°C. Dazu wurde der FID als polyn. Interpolation (weiß) verwendet. Links – S10; Rechts – T10.

Daraus lassen sich die Spin-Spin-Relaxation  $T_2$  und deren Anteile bestimmen. Tabelle 4.1. 7 fasst dies zusammen.

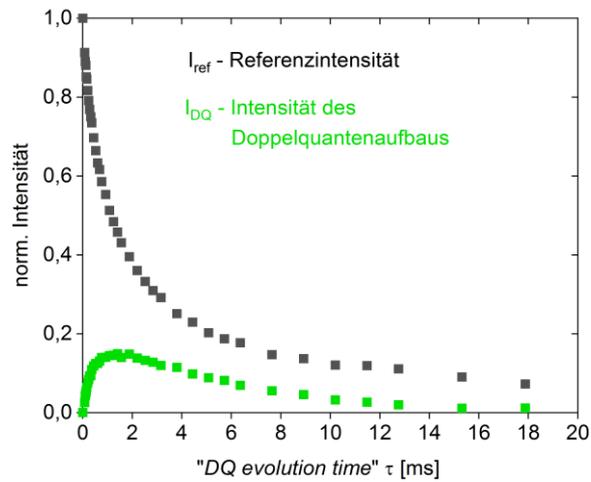
**Tabelle 4.1. 7:** Spin-Spin Relaxation  $T_2$  und deren Anteile bestimmt über den globalen Fit des FID und Hahn Echos.

Hydrogel	B10	B50	B100	S10	T10
$T_2$	0,38	0,75	1,00	0,03	0,17
	2,16	8,13	18,05	0,42	1,91
	37,50			68,93	74,01
<b>Anteil [%]</b>	33,89	14,07	13,42	40,30	23,10
	32,18	52,60	46,50	44,60	22,15
	4,40			4,90	9,34

Es ist für alle Hydrogele ein Unterschied bei  $T_2$  zu beobachten. Allgemein liegt  $T_2$  für alle Hydrogele im Bereich von Mikro- bis Millisekunden, was insgesamt für eine hohe Mobilität des Netzwerks spricht. B10, S10 und T10 weisen dabei eine ähnliche Mobilitätsverteilung auf. So ist der Anteil der stärker beweglichen Komponenten höher, als der Anteil der stärker vernetzten Komponente. Am Beispiel B10 hieße das konkret, dass zwei Komponenten mit einem Gesamtanteil von ca. 66 % eine höhere Mobilität aufweisen als ca. 4 % einer Komponente mit stärker eingeschränkter Kettenbeweglichkeit. Im Gegensatz dazu weisen B50 und B100 lediglich zwei Komponenten auf, wobei der höchste Anteil (47-53 %) einer etwas eingeschränkteren Komponente zugeteilt werden kann. Außerdem befindet sich die mobilere Komponente mit einem Anteil von ca. 13-14 % im Netzwerk. Auch der durch MSE verlängerte FID zeigt für B10, S10 und T10 einen vergleichbaren Abfall. Dieser bestätigt Anteile von geringerer Kettenbeweglichkeit. Ein Anteil an rigiden Komponenten ist jedoch dadurch ausgeschlossen, da entsprechende zusätzliche steile Kurvenabfall zu Beginn der Messwertaufnahme des MSEs fehlen. Der durch MSE verlängerte FID von B50 und B100 belegt wiederum aufgrund des flacheren Abfalls die Abwesenheit von rigiden Anteilen und damit eine hohe Mobilität des Netzwerks.

Am Beispiel des B10 soll nachfolgend die generelle Auswertung der Daten der Multiquantenexperimente (MQ-Experimente) vorgestellt werden. Dabei wird speziell Bezug auf die schematische Schrittfolge, welche in Kapitel 8.3.3 nachzulesen ist, genommen. Für alle weiteren Proben wurde dies analog verfolgt. Eine ausführliche Darstellung der Theorie ist dem Kapitel 2.3.3 zu entnehmen.

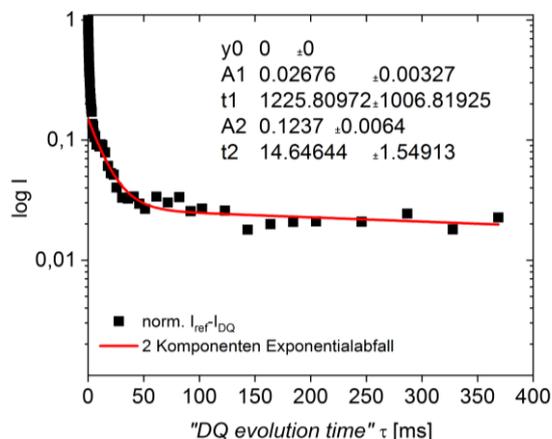
**Schritt 1:** Messung der Referenzintensität  $I_{ref}$  und Intensität der Doppelquantenaufbaukurve  $I_{DQ}$  mit anschließender Normierung (Abbildung 4.1. 37).



**Abbildung 4.1. 37:** Auftragung der normierten  $I_{ref}$  (schwarz) und  $I_{DQ}$  (grün) für das Hydrogel B10 bei 70°C vermessen.

Die gemessene Intensität der Doppelquantenaufbaukurve  $I_{DQ}$  enthält Informationen bezüglich der Struktur und der Dynamik im Netzwerk. Mit Hilfe der Referenzintensität  $I_{ref}$  lässt sich der Einfluss der Dynamik entfernen.

**Schritt 2:** Subtraktion  $I_{ref} - I_{DQ}$  und teillogarithmische Auftragung der Differenz gegen  $\tau_{DQ}$  mit Berechnung eines zweikomponentigen exponentiellen Abfalls mit Zeitkonstanten. Daraus ergeben sich über die Faktoren  $A_1$  und  $A_2$  die nicht-elastischen Defekte, welche bei zuvor erfolgter Normierung direkt durch Multiplikation mit hundert als Prozent angegeben werden können (Abbildung 4.1. 38)



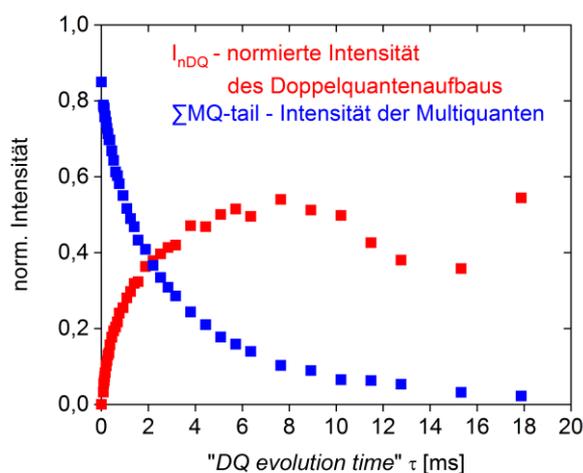
**Abbildung 4.1. 38:** Auftragung der Differenz  $I_{ref}$  und  $I_{DQ}$  für das Hydrogel B10 vermessen bei 70°C. Außerdem ist der 2-Komponentenfit enthalten (rote Linie).

Tabelle 4.1. 8 fasst die Ergebnisse für alle Hydrogele zusammen. Dabei variieren die nicht elastischen-Effekte sowohl mit dem Anteil des Vernetzers als auch durch die Monomerwahl. So nehmen die nicht-elastischen Defekte mit abnehmendem Anteil des Vernetzers von 16 % (B10) zu 50 % (B100) zu. Der Unterschied zwischen B50 und B100 beträgt 7 %. Allgemein werden unter nicht-elastischen Defekten in diesem Zusammenhang beispielsweise Sole (folglich hier D<sub>2</sub>O) und lose Kettenenden verstanden. Die Differenz zu 100 % spiegelt den Anteil des Polymers wider. Ein direkter Vergleich ist nur bedingt möglich, da zwar ein ähnliches Probenvolumen vermessen wurde, aber die Abmessungen der Hydrogele bzw. das Quellverhältnis nicht vollständig übereinstimmt. Grundsätzlich implizieren diese Daten einen geringeren Lösungsmittelanteil und weniger lose Kettenenden für das B10 (höherer Vernetzeranteil). Eine weitere Analytik der losen Kettenenden in Form von nicht umgesetzten Doppelbindungen mittels Bromzahl scheiterte.

**Tabelle 4.1. 8:** Zusammenfassung der ermittelten nicht-elastischen Defekte [%] für die Hydrogele der B-Reihe, S10 und T10.

Hydrogel	B10	B50	B100	S10	T10
nicht-elastische Defekte [%]	16	43	50	18	26
Netzwerkkomponente [%]	84	57	50	82	74

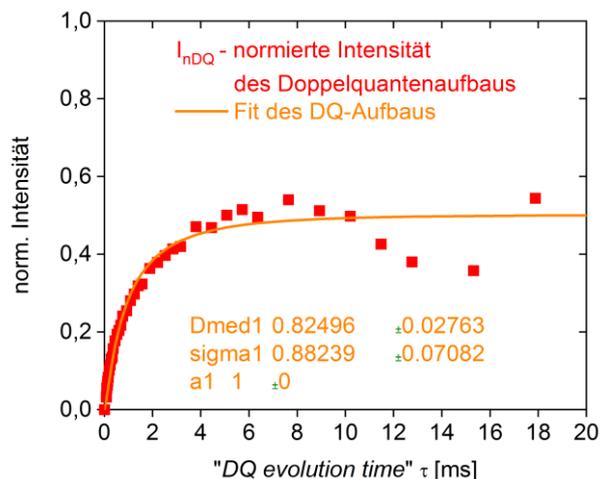
**Schritt 3:** Parameter gewichtete Berechnung von  $I_{\Sigma MQ}$  gemäß Gleichung 29 und Berechnung von  $I_{nDQ}$  gemäß Gleichung 30 durch Differenzbildung (Abbildung 4.1. 39)



**Abbildung 4.1. 39:** Auftragung der normierten  $I_{nDQ}$  (rot) und  $\Sigma MQ - tail$  (blau) für das Hydrogel B10 vermessen bei 70°C.

$I_{\Sigma MQ}$  enthält nun ausschließlich Informationen über die Dynamik des Netzwerks. Somit kann die gemessene  $I_{DQ}$  um diesen Einfluss korrigiert werden, wodurch  $I_{nDQ}$  ausschließlich Informationen über die Struktur liefert. Zur Überprüfung der richtigen Korrektur dient der maximale relative Intensitätswert von 0,5.

**Schritt 4:** Bestimmung von  $D_{med}$  und  $\sigma$  durch Berechnung von Fitparametern. Erklärungen zur gewählten Funktion folgen.

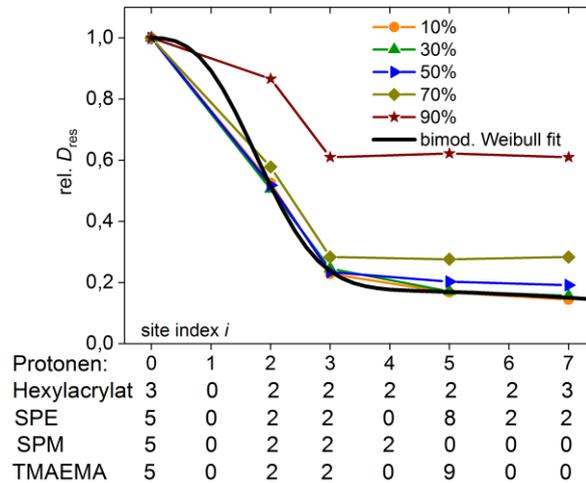


**Abbildung 4.1. 40:** Auftragung der normierten  $I_{nDQ}$  (rot) und des dazugehörigen Fits für das Hydrogel B10 vermessen bei 70°C.

Durch Anlegen der in der Literatur bekannten Fitfunktion kann der Verlauf der Aufbaukurve nicht vollständig beschrieben werden. Dies wird besonders durch ein  $\sigma_{in} > 1$  erkennbar, welches für alle Hydrogele bestimmt werden konnte. Eine Zahl  $> 1$  ist zwar mathematisch nachvollziehbar, aber eine Verteilung größer 1 nicht erklärbar. Daher müssen Anpassungen der Fitfunktion getroffen werden. Denn diese in der Literatur beschriebene Auswertung gilt streng genommen nur für Protonen in unmittelbarer Nähe zum Polymerrückgrat. Da diese Monomere ausgeprägte Seitenketten mit einer nicht zu ignorierenden Anzahl an Protonen aufweisen, können Einflüsse auf  $D_{med}$  und  $\sigma$  durch bewegliche Seitenketten nicht ausgeschlossen werden. Daher wurde die Auswertung unter Berücksichtigung der Seitenketten für B10, B50 und B100 erweitert.<sup>7</sup> Details sind der Publikation Ihlenburg *et al.* zu entnehmen.<sup>224</sup> Anhand der Hydrogele S10 und T10 soll dies aufgeführt und erläutert werden. Als Grundlage diente die Arbeit von Wu *et al.*, in der ein Mobilitätsgradient am Beispiel einer Hexylacrylatkette mathematisch erfasst wurde.<sup>225</sup> Dazu wurde für jede Position der Protonen

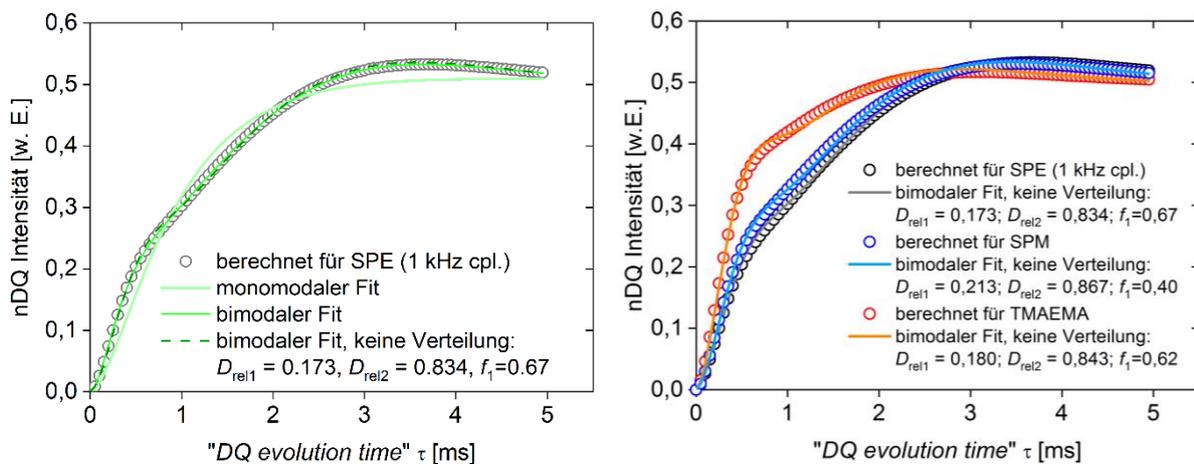
<sup>7</sup> Die Auswertung hinsichtlich der Seitenketten im B10, B50 und B100 erfolgte durch K. Saalwächter und R. Baerenwald.

ein  $D_{res}$  abgeschätzt. Die Position 0 nimmt dabei die Position des Polymerrückgrates ein (Abbildung 4.1. 41).



**Abbildung 4.1. 41:** Relative  $D_{res}$  in Abhängigkeit von Protonen in der Seitenkette. Daten der Hexylacrylat-Kette von Wu et al. enthalten den Anteil von Poly(hexylacrylat) in Prozent.<sup>225</sup>

Zur Interpolation mittels zweikomponentiger Weibull-Funktion (Abbildung 4.1. 41 schwarz) wurden die Kurven mit dem geringsten Anteil an Poly(hexylacrylat) (Abbildung 4.1. 41 orange, grün) verwendet. Daraus können nun individuelle Kurven für jedes Monomer berechnet werden. Dazu wurde eine gewichtete Überlagerung von Einzelkurven gemäß Gleichung 31 verwendet. Jede Einzelkurve wurde gemäß der Kopplung aus dem Weibull-Fit gewichtet und die Intensität auf die Anzahl der Protonen (Abbildung 4.1. 41 unten) skaliert. Diese berechnete Kurve kann zunächst mit den bekannten Funktionen gefittet werden. Dies ist exemplarisch am Monomer SPE gezeigt (Abbildung 4.1. 42 links).



**Abbildung 4.1. 42:** Auftragung der berechneten Aufbaukurven der Monomere und angelegte Fit-Funktionen. Links – SPE mit einem monomodalen (hellgrüne Linie), bimodalen (grüne Linie) und bimodalen Fit ohne Verteilung (dunkelgrüne gestrichelte Linie); Rechts – Berechnete Aufbaukurven der Monomere SPE (schwarz), SPM (blau) und TMAEMA (rot) mit bimodalem Fit ohne Verteilung.

Aus dieser Auftragung wird ersichtlich, dass eine monomodale Fitfunktion (Abbildung 4.1. 42 hellgrüne Linie) den Verlauf der Aufbaukurve des SPE-Monomers nicht abdeckt. Daher wurde ein bimodaler Fit mit (Abbildung 4.1. 42 grüne Linie) und ohne Verteilung (Abbildung 4.1. 42 dunkelgrün gestrichelte Linie) ausprobiert. Dabei erwies sich der bimodale Fit ohne Verteilung am geeignetsten, um den gesamten Verlauf der Aufbaukurve beschreiben zu können. Daher wurde für die beiden anderen Monomere ebenfalls der bimodale Fit ohne Verteilung verwendet (Abbildung 4.1. 42 rechts). Dementsprechend kann eine Streuung der Kopplungen entlang der Seitenketten mit einem Faktor von ca. 4 beobachtet werden. Folglich sind die Werte mit einer breiten Verteilung nicht aufgrund einer Netzwerkinhomogenität, sondern z.T. auf die Seitenkette zurückzuführen. Um dieser Beobachtung genügend Beachtung zu schenken kann zunächst eine monomerspezifische Fitfunktion erstellt werden, in der die ermittelten Werte von  $D_{rel1}$  und  $D_{rel2}$  verwendet werden. Daraus ergeben sich folgende Werte.

**Tabelle 4.1. 9:** Zusammenfassung der ermittelten  $D_{med}/2\pi$  [Hz] und dessen Standardabweichung  $\sigma_{in}$  für die Hydrogele der B-Reihe, S10 und T10 ermittelt mit monomerspezifischen Fitfunktionen bei 70°C.

Hydrogel	B10	B50	B100	S10	T10
$D_{med}/2\pi$ [Hz]	825	142	33	2988	7906
$\sigma_{in}$	0,88	0,40	0,29	0,99	nicht bestimmbar

Besonders für die Monomere S10 und T10 sollte diese Vorgehensweise mit Vorbehalt durchgeführt werden. Ausgeprägte  $T_2$  Effekte führen zu einer Verzerrung der Datenpunkte und beim Hydrogel T10 konnten bei 70°C keine ausreichende Datenqualität erzielt werden. Daher wurden für die Hydrogele S10 und T10 auch die Aufbaukurven aufgenommen bei 100°C verstärkt ausgewertet.

Diese Werte implizieren eine Abhängigkeit von der Vernetzerdichte. So sinkt sowohl  $D_{med}/2\pi$  als auch  $\sigma_{in}$  je geringer der Anteil von TMEBMPA/Br im Hydrogel ist.  $D_{med}/2\pi$  korreliert mit  $D_{res}$  und ist damit proportional zum Ordnungsparameter  $S_b$  (vgl. Kapitel 2.3.3). Setzt man diese Ergebnisse in den Kontext der nicht-elastischen Defekte bzw. dem Netzwerkanteil, ergibt sich folgendes Bild:

- **B-Reihe:** Je höher der Vernetzeranteil, desto höher der Anteil der Netzwerkkomponente. Diese ist dann zudem stärker vernetzt und damit weniger beweglich. Außerdem steigt damit auch die Inhomogenität. Konkret heißt dies für den Vergleich B10 mit B100, dass die 84 % Netzwerkkomponente des B10s ca. 25-fach stärker vernetzt ist als das B100.
- **B10, S10:** Diese Hydrogele sind in Bezug auf Anteil der Netzwerkkomponente und Inhomogenität vergleichbar. Jedoch ist das S10 ca. 4-fach stärker vernetzt.

Diese Ergebnisse unterstützen die vorangegangene Analytik und die makroskopischen Beobachtungen hinsichtlich Quellvermögen und mech. Beschaffenheit.

### **Hypothetische Struktur der Hydrogele direkt nach der Synthese und nach Alterung**

Aus diesen gesammelten Daten ist es nun möglich ein hypothetisches Modellsystem für die Netzwerkstruktur und die damit verbundenen Synthese- bzw. Alterungsprozesse zu erstellen. Dabei können für alle Netzwerke hierarchische Strukturen im  $\mu\text{m}$ -Bereich und auf der Molekülebene veranschaulicht werden.

Das grundlegende Netzwerk direkt nach der Synthese wird zunächst über die Gelierungszeit und den Wassergehalt während der Synthese reguliert. Der zweite Aspekt kann in diesem Fall vernachlässigt werden, da der Anteil für alle Hydrogeltypen äquivalent ist. Bei gleichem Vernetzeranteil in der Prekursorlösung steigt die Gelierungszeit von B10, S10 über T10, wodurch die Homogenität des Netzwerks zunimmt. Dies konnte mittels Kryo-REM bestätigt werden. Als Hauptursache ist die WW. unter den Monomeren aufzuführen. Bei gleichbleibendem Monomer und variierender Vernetzerdichte kann eine Korrelation zur Gelierungszeit nicht eindeutig bestätigt werden, da die Unterschiede in den Gelierungszeiten nicht signifikant sind. Trotzdem scheint das B100 insgesamt homogener.

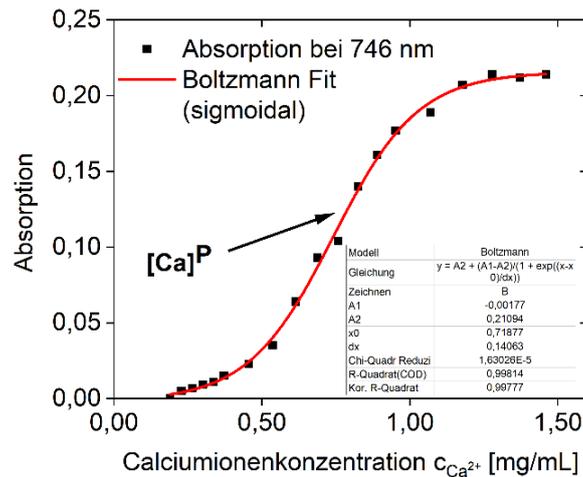
Dieses primäre Netzwerk durchläuft Alterungsprozesse, vorrangig hervorgerufen durch die chem. Natur der Seitenketten und einer weiteren Quellung in Wasser. Anzunehmen wäre hier eine Erweiterung der Maschen und damit ein lockeres Netzwerk. Möglich macht dies die erhöhte Mobilität, welche mittels Niederfeld-NMR, genauer dem FID, MSE und Hahn-Echo, quantifiziert wurde. Für das B10 ist ein gegen die Erwartungen auftretender Effekt zu beobachten. Die Maschenweite gemäß SAXS-Messungen wird verkleinert, wodurch eine weitere Domäne mit einem  $D = 4$  gebildet wird. Somit wird infolge der Alterung keine Streckung, sondern eine Knäulung oder auch Mikrophasenseparation hervorgerufen. Gemäß der MQ-Experimente konnte aber die erhöhte Inhomogenität belegt werden. Die Netzwerke des B50s und B100s weisen zwar weniger kompakte Bereiche auf, aber die Maschen sind entweder kleiner (beim B50) oder gleich groß (beim B100). Auch hier dominieren attraktive WW., welche jedoch aufgrund der geringeren Vernetzerdichte eine insgesamt lockere Netzwerkstruktur generieren. Auch die steigende Homogenität im  $\mu\text{m}$ -Bereich aus den Kryo-REM Aufnahmen konnte für das gesamte Netzwerk mittels MQ-Experimenten bestätigt werden. Im S10 ist die Domäne gemäß SAXS-Messung zwar kompakter nach der Alterung, aber die Maschenweite ändert sich nicht signifikant. Somit bewirken die attraktiven WW. die Alterung. Lediglich beim T10 ist eine Vergrößerung der Maschenweite detektierbar, aber auch  $D$  ist höher. Die repulsiven WW. im Netzwerk sind hier folglich dominierend.

## 4.2 Hydrogele für die matrixgesteuerte Mineralisation von Calciumphosphat und -carbonat

Die in Kapitel 4.1 beschriebenen Hydrogele sollten anschließend mit verschiedenen Methoden mineralisiert werden. Dazu sollten zuerst Vorbetrachtungen der Mineralisation in Lösungen erfolgen. Anschließend wurden die Gele sowohl über ein alternierendes Eintauchverfahren (engl. „*alternate soaking method*“) als auch unter Verwendung einer horizontalen Gelelektrophorese mit Calciumphosphat mineralisiert. Die so präparierten Hybridmaterialien wurden dann sowohl quantitativ als auch qualitativ charakterisiert. Dazu wurden vorrangig die thermogravimetrische Analyse (TGA), Infrarot-Spektroskopie (IR), Raman-Spektroskopie, Rasterelektronenmikroskop mit energiedispersiver Röntgenspektroskopie (REM/EDXS) und Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD) verwendet.

### 4.2.1 Calciumphosphat-Mineralisation: In Lösung

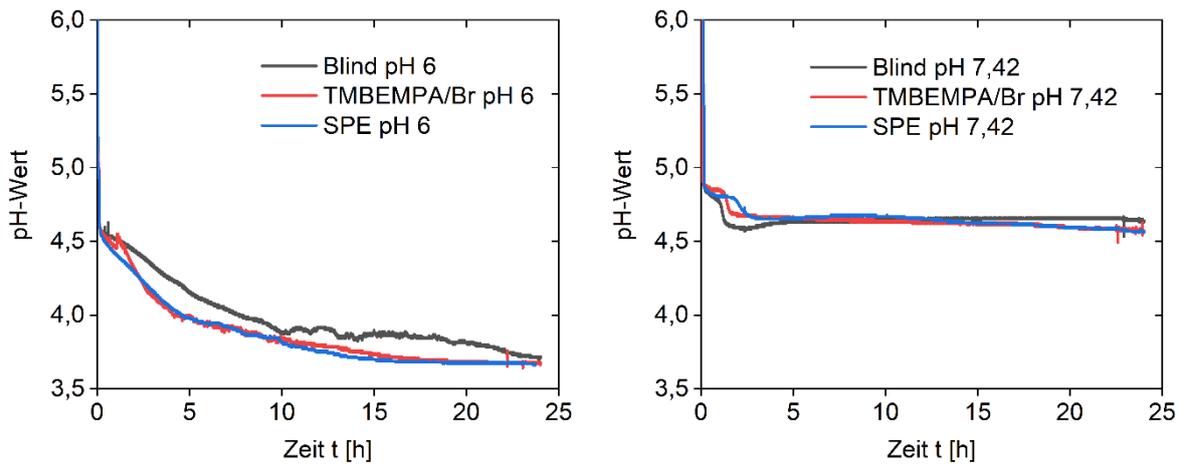
Zu Beginn sollte der Einfluss der verschiedenen Monomere und des Vernetzers auf die Mineralisation von Calciumphosphat in Lösung analysiert werden. Dabei sind einige Ergebnisse in der von mir betreuten Bachelorarbeit von Svenja Gerhardt entstanden.<sup>226</sup> Diese wurden jedoch ergänzt bzw. reproduziert. Dazu wurden als erstes Trübungstitrationen durchgeführt. Das generelle Prinzip soll am Beispiel des Vernetzers dargestellt werden. Dieser wurde in doppelt konzentrierter simulierter Körperflüssigkeit (2SBF)<sup>227–229</sup> gelöst, welche dem menschlichen Speichel hinsichtlich der Konzentration der gelösten Salze nachempfunden ist. Anschließend wurde nach sukzessiver Zugabe von 0,1 M Calciumchloridlösung die jeweilige Absorption bei 746 nm bestimmt. Die Auftragung der Absorption bei 746 nm gegen die Calciumkonzentration ergibt einen sigmoidalen Kurvenverlauf. Über einen sigmoidalen Boltzmann Fit kann dann die kritische Calciumbildungskonzentration  $[Ca]^P$  aus dem Wendepunkt bestimmt werden (Abbildung 4.2. 1).



**Abbildung 4.2. 1:** Bestimmung der kritischen Calciumbildungskonzentration  $[Ca]P$  über einen sigmoidalen Boltzmann-Fit (rote Linie) der gemessenen Absorptionen bei 746 nm bei eingestellter Calciumionenkonzentrationen (schwarze Quadrate).

Dies wurde analog für die Monomere SPE und SPM durchgeführt. Als Vergleichswert diente eine Titration ohne Monomierzusatz. Bei einem bloßen Vergleich der Zahlenwerte zeigte sich, dass das SPE und TMBEMPA/Br die Calciumphosphatbildung retardiert. Hier steigt die Konzentration, bei der die erste Fällung des Calciumphosphats eintritt, von  $0,69 \pm 0,02$  mg bei der Blindprobe auf  $0,75 \pm 0,02$  mg (SPE) bzw.  $0,74 \pm 0,01$  mg (TMBEMPA/Br) an. Demgegenüber wird durch den Zusatz von SPM die Bildung akzeleriert. An dieser Stelle ist eine Verringerung der kritischen Fällungskonzentration auf  $0,67 \pm 0,01$  mg zu beobachten. Jedoch ist anzumerken, dass die Unterschiede im Bereich von  $0,06$  mg liegen. Dies lässt keine Ableitung bezüglich des Einflusses der verwendeten Substanzen auf die Calciumphosphatmineralisation zu. Dies ist insofern bemerkenswert, da es sich bei den Monomeren um unterschiedlich geladene Systeme handelt. Somit ist ein Einfluss von Ladungen auf die Mineralisation mit dieser Methode nicht zu beobachten. Leicht retardierende Effekte könnten somit ausschließlich über Wechselwirkungen zwischen Ladungen des Monomers und den  $Ca^{2+}$ -Ionen bzw. Phosphationen in der Lösung und damit vorhandene Abschirmungseffekte erklärt werden.

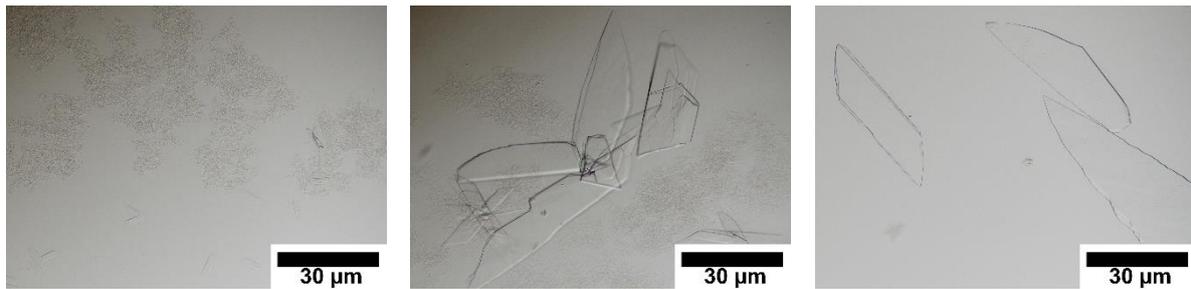
Während der Mineralisation ist eine Änderung des pH-Wertes der verwendeten Lösungen zu erwarten. Daher wurde der Verlauf des pH-Werts innerhalb 24 h dokumentiert. Bei der Verfolgung des pH-Wertes während der Mineralisation von 24 h kann bei einem Ausgangswert von  $pH = 6$  keine signifikante Unterscheidung zwischen der Blindprobe und den Proben mit  $10$  mg/mL Monomer bzw. Vernetzer gemacht werden (Abbildung 4.2. 2 links).



**Abbildung 4.2. 2:** pH-Wert Verläufe für 24 h während der Mineralisation von Calciumphosphat.

In allen Fällen kommt es in Folge der Zugabe von 0,2 M  $\text{CaCl}_2$ -Lsg. zu einem Abfall des pH-Wertes auf ca. 4,5. Danach folgt ein kontinuierlicher Abfall des pH-Wertes auf  $\text{pH} < 4$ . Bei einem Ausgangswert von  $\text{pH} = 7,42$  kann ein genereller Kurvenverlauf beschrieben werden (Abbildung 4.2. 2 rechts). Zunächst erfolgt innerhalb der ersten 2 bis 6 min ein Abfall des pH-Wertes auf ca. 4,8. Anschließend schließt sich ein abgerundeter z-förmiger Kurvenverlauf an. Die Ausprägung ist vom Probenzusatz abhängig. Ab ca. 5 h ist der pH-Wert nahezu konstant bzw. fällt um 0,1, jedoch ist anzumerken, dass die Auswertung solcher pH-Kurven aufgrund einer Vielzahl an Einflussfaktoren erschwert wird. Daher wurde auf eine dreifache Bestimmung verzichtet und lediglich die Daten aus der zuvor genannten Bachelorarbeit um die Messreihe mit 10 mg/mL TMBEMPA/Br ergänzt.

Einen ersten Überblick über die entstehenden Morphologie geben Aufnahmen der optischen Lichtmikroskopie (Abbildung 4.2. 3). Bei der Zugabe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung zum Sørensen-Puffer mit  $\text{pH} = 6$  und dem TMBEMPA/Br war die Bildung eines feinen weißen Niederschlags zu erkennen. Nach 10 min war ein flockiger Feststoff, welcher aus Sphären und Partikeln undefinierter Form zusammengesetzt ist, zu beobachten. Teilweise sind darin Plättchen mit einer Kantenlänge von ca.  $6 \times 2 \mu\text{m}$  zu erkennen. Mit der Zeit nahm die Menge am flockigen Feststoff ab und die Plättchen wurden größer (beispielhafte Kantenlänge von ca.  $58 \times 16 \mu\text{m}$ ). Auch die Mineralisationslösung klarte mit der Zeit immer weiter auf und am Gefäßboden waren farblose Kristalle erkennbar. Ein Unterschied zur Blindprobe war makroskopisch nicht zu erkennen.



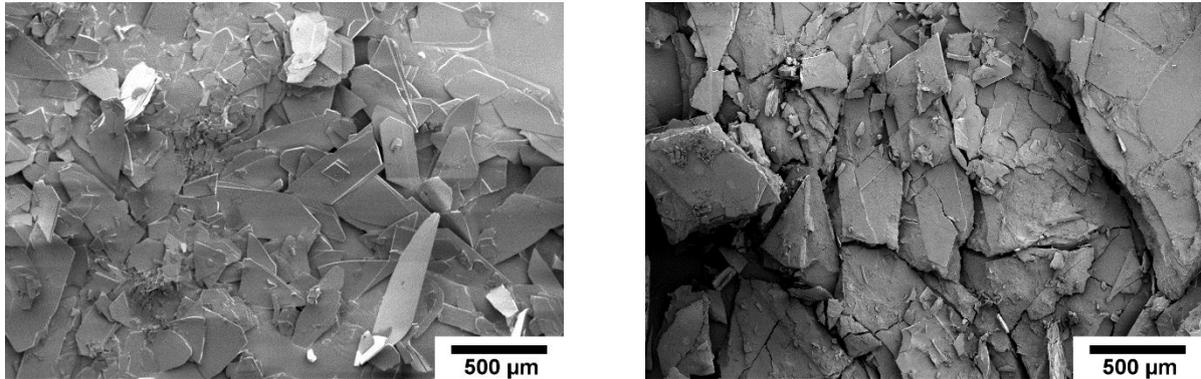
**Abbildung 4.2. 3:** Aufnahmen mittels Optischer Lichtmikroskopie der Mineralisation bei  $\text{pH} = 6$  und einer Zugabe von  $1 \text{ mg/mL TMBEMPA/Br}$ : Links – 10 min; Mittig – 5 h; Rechts 24 h.

Demgegenüber schien die Menge des ausgefallenen Niederschlags nach Zugabe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung bei einem  $\text{pH}$ -Wert von 7,42 größer. Nach 10 min war ausschließlich ein feiner weißer Niederschlag zu erkennen. Dieser ist vergleichbar mit dem Niederschlag ausgefällt bei  $\text{pH} = 6$  nach 10 min. Jedoch war zum einen eine zusammenhängende und großflächige Feststoffschicht zu erkennen und zum anderen lag eine höhere Quantität vor. Nach 3 h waren erste farblose Plättchen mit einer Kantenlänge von ca.  $20 \times 8 \text{ µm}$  zu beobachten. Unregelmäßig und in geringerer Anzahl waren bereits größere Exemplare sichtbar. Ein Wachstum bis zu einer Kantenlänge von  $64 \times 18 \text{ µm}$  war in den nächsten Stunden zu beobachten. Dies beinhaltete eine verringerte Quantität des feinen Feststoffes. Auch in diesem Fall scheint makroskopisch kein signifikanter Unterschied zur Blindprobe vorzuliegen.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass die unterschiedliche Morphologie eher durch den  $\text{pH}$ -Wert der Ausgangslösung bestimmt wird als durch den Zusatz von Monomer bzw. Vernetzer. Die dominierende plättchenartige Form bei  $\text{pH} = 6$  gibt hier erste Hinweise auf Brushit (vgl. Kapitel 2.1.1). Apatite und ACP sind häufig sphärisch, welches die vorherrschende Form bei der Mineralisation bei  $\text{pH} = 7,42$  ist (vgl. Kapitel 2.1.1). ACP lässt sich eher ausschließen, da diese Form auch nach 24 h zu erkennen ist. ACP ist jedoch kinetisch nicht stabil, weshalb innerhalb der 24 h eine Phasenumwandlung stattgefunden haben sollte (vgl. Kapitel 2.1.1). Anhand der Morphologie ist eine komplette Zuordnung nicht möglich, weshalb eine weitere Analytik erforderlich ist.

Mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) kann der Einfluss der Monomere auf die Morphologie des entstandenen Calciumphosphats detaillierter als mit dem OM analysiert werden. Es zeigte sich, dass bei einem  $\text{pH}$ -Wert von 6 vorrangig Plättchen mit glatter Oberfläche vorliegen (Abbildung 4.2. 4 links). Dabei sind Abmessungen sowohl in einem Bereich von  $100\text{-}500 \text{ µm}$  Länge und ca.  $200 \text{ µm}$  Breite variabel. Dagegen bewirkte die Erhöhung des  $\text{pH}$ -wertes auf 7,42 eine Änderung der Morphologie (Abbildung 4.2. 4 rechts). Hier traten eher blockartige Strukturen mit rauer Oberfläche auf. Die zuvor beschriebenen

Plättchen waren teilweise zu finden, jedoch scheinen diese nicht signifikant für die Morphologie bei diesem pH-Wert zu sein.

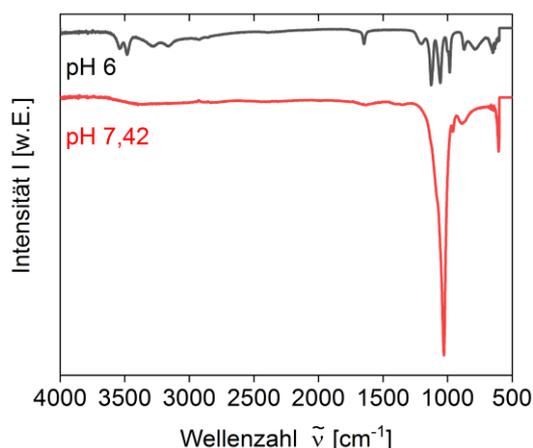


**Abbildung 4.2. 4:** Rasterelektronenaufnahmen der Proben V6 (links) und V7,42 (rechts). Zu einer Mineralisationslösung wurden jeweils 1 mg/mL TMBEMPA/Br gegeben.

Über die energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDXS) konnte dann das Verhältnis von Calcium zu Phosphor (Ca/P) bestimmt werden. Durchschnittlich konnten hier bei einem pH-Wert von 6 Verhältnisse von  $0,84 \pm 0,02$  und bei 7,42  $1,03 \pm 0,24$  bestimmt werden. Dabei ist anzumerken, dass vor allem bei pH 7,42 zwei verschiedene Bereiche unterschieden werden konnten. Die blockartigen Strukturen wiesen zumeist einen Wert von ca. 1,10 auf. Die plattenartigen Strukturen hingegen lagen bei ca. 0,80. In der Mineralisationslösung waren außerdem Kalium-, Natrium- und Chloridionen enthalten. Trotzdem wurden mittels EDXS nur in Ausnahmefällen Natrium bzw. Chlor detektiert.

Aus diesem Verhältnis können nun Rückschlüsse auf die vorhandenen Phasen des Calciumphosphats gezogen werden. Ein Ca/P-Verhältnis von  $< 1$  weist auf das Brushit hin, wohingegen ein Wert von 1,67 dem Hydroxylapatit (HAP) zugeordnet werden kann (vgl. Tabelle 2. 1). Die ermittelten Werte sind deutlich kleiner und daher nicht direkt zuzuordnen. Begründet wird das über die starke Aufladung der Materialien während der Elektronenmikroskopie. Um dies weiterhin analysieren zu können wurden Spektren mittels Infrarotspektroskopie (IR) bzw. Ramanspektroskopie und Diffraktogramme mittels Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD) aufgenommen.

Zunächst konnten zwei grundsätzliche Spektren mittels IR-Spektroskopie aufgenommen werden. Beispielhaft seien hier die Spektren der Feststoffe gezeigt, welche durch Zugabe von 1 mg/mL Vernetzer bei den betrachteten pH-Werten mineralisiert wurden. Identische Spektren ergaben sich bei der Analyse der anderen Proben mit anderen Additiven. Jedoch kann der Trend formuliert werden, dass bei einem pH-Wert von 6 ein Spektrum mit mindestens zwölf Banden und bei pH = 7,42 ca. fünf Banden detektiert werden konnten (Abbildung 4.2. 5).



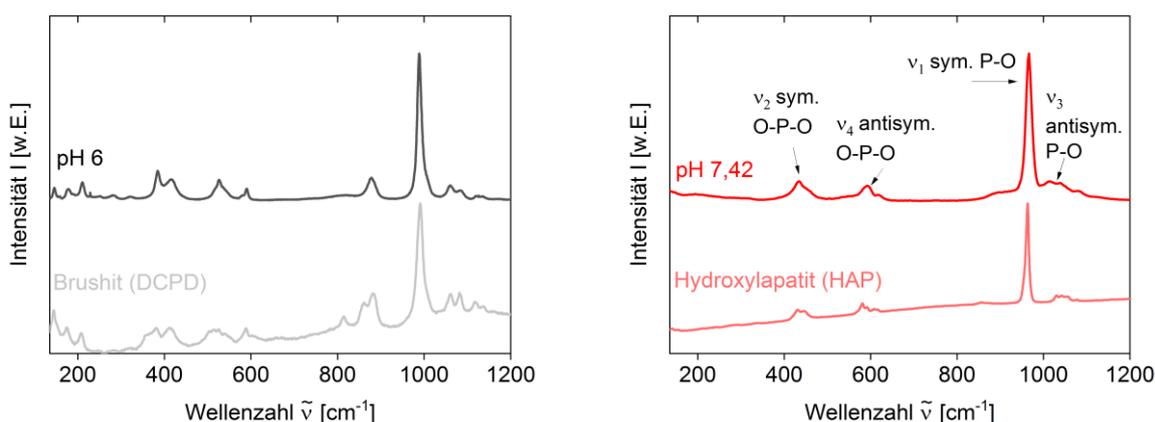
**Abbildung 4.2. 5:** Infrarotspektren der Proben V6 und V7,42. Dabei wurde 1 mg/mL TMBEMPA/Br zur Mineralisationslösung bei pH = 6 (schwarz), pH = 7,42 (rot). gegeben.

Bei einem pH-Wert von 6 können die vier mittelstark ausgeprägten Banden im Bereich 3500 – 3000  $\text{cm}^{-1}$  der OH-Streckschwingung ( $\nu$ -OH) zugeordnet werden (Abbildung 4.2. 5 schwarz). Die Intensitätsunterschiede der beiden Dubletten können über die Art der Bindung von Kristallwasser erklärt werden. So führt lose gebundenes Kristallwassermolekül zu einer intensiveren Dublette bei höherer Wellenzahl. Ist das Kristallwasser jedoch direkt an das Calciumion gebunden, resultiert daraus die weniger intensive Dublette bei etwas geringerer Wellenzahl.<sup>230–232</sup> Weitere Banden der Hydroxylgruppe sind bei 1646  $\text{cm}^{-1}$  (Biegeschwingung  $\delta$ -OH des Wassers) und im Bereich von 792  $\text{cm}^{-1}$  (Rotationschwingungen des Wassers  $\rho$ -H<sub>2</sub>O) zu finden. Die anderen Banden implizieren das Vorhandensein von Phosphaten durch verschiedene Schwingungen des Phosphors mit Sauerstoff bzw. Wasserstoff. Dazu gehören die Banden im Bereich von ca. 1100-887  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu$ -PO). Die Banden unterhalb von 500  $\text{cm}^{-1}$  sind nicht vollständig auswertbar, enthalten aber sowohl die OPO-Biegeschwingungen als auch die  $\rho$ -H<sub>2</sub>O. Ergänzt wird das Spektrum durch Banden bei 2848  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu$ -H), 1202  $\text{cm}^{-1}$  („in plane“ H) und 792  $\text{cm}^{-1}$  („out of plane“ H). Diese Banden sind zusammengenommen charakteristisch für Kristallwasser und  $\text{HPO}_4^{2-}$  Ionen, weshalb das Spektrum typisch für Brushit ist.<sup>230,231</sup>

Demgegenüber sind die Banden der Hydroxylgruppe in den beschriebenen Bereichen lediglich als stark verbreiterte Banden zu erkennen (Abbildung 4.2. 5 rot). Die Bande bei 1028  $\text{cm}^{-1}$  ist stark ausgeprägt und breit und kann der Streckschwingung im Phosphation ( $\nu_3$ - $\text{PO}_4^{3-}$ ) zugeordnet werden. Die häufig auftretende Schulter bei 1090  $\text{cm}^{-1}$  (dreifach entartete antisym. O–P–O  $\nu_3$ ) ist daher nicht isoliert zu erkennen. Ergänzen würde dies ein Triplett im Bereich 600-500  $\text{cm}^{-1}$  (O–P–O  $\nu_4$  Biegeschwingung). Die Bande bei 604  $\text{cm}^{-1}$  ist zu erahnen, wird aber durch das Ende des Messbereichs nicht komplett dargestellt. Zugeordnet wird dies Phosphat- bzw. Hydrogenphosphationen. Die Banden bei 1028  $\text{cm}^{-1}$  und 604  $\text{cm}^{-1}$  sind charakteristisch für HAP.<sup>231</sup> Charakteristische Schwingungen der OH-Gruppe oberhalb 3000

$\text{cm}^{-1}$  und  $1650$  bzw.  $1348 \text{ cm}^{-1}$  sind lediglich als stark verbreiterte Banden mit sehr geringer Intensität zu beobachten. Diese implizieren eine Adsorption von Wasser. Die Bande bei  $959 \text{ cm}^{-1}$  kann ebenfalls einer O-P-O Schwingung, der sym. Streckschwingung  $\nu_1$ , zugeordnet werden. Die Bande bei  $892 \text{ cm}^{-1}$  deutet auf die Anwesenheit von  $\text{CO}_3^{2-}$ -Ionen in Form der  $\nu_2$  Biegeschwingung. Dies lässt sich durch gelöstes  $\text{CO}_2$  aus der Luft in Form des Carbonates erklären. Alternativ könnte diese Bande auch der sym. Streckschwingung des  $\text{HPO}_4^{2-}$  zugeordnet werden. Zusammen mit den sehr schwach ausgeprägten Banden bei  $3000 \text{ cm}^{-1}$  und  $1650$  bzw.  $1348 \text{ cm}^{-1}$  wäre dies charakteristisch für DCPD.

Mittels Raman-Spektroskopie können vergleichbare Ergebnisse ermittelt werden. Auch hier sind zwei grundlegende Spektren zu beobachten. In Ausnahmefällen ist ein Überlappen der zwei Spektren zu erkennen. Die Spektren der Proben bei  $\text{pH} = 6$  enthalten mindestens 13 Banden wohingegen die Spektren der Proben bei  $\text{pH} = 7,42$  lediglich sechs breite Banden zeigen (Abbildung 4.2. 6). Aus den IR-Spektren wurden erste Hinweise auf DCPD und HAP gezogen. Daher erfolgt hier der Vergleich der experimentellen Spektren mit den jeweiligen Literaturspektren.

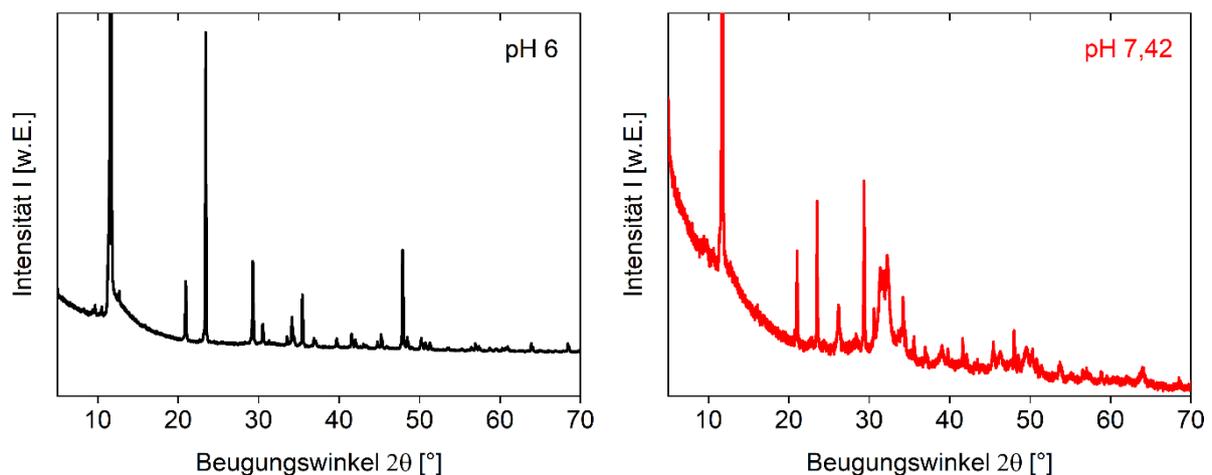


**Abbildung 4.2. 6:** Vergleich der experimentellen Ramanspektren mit Literaturspektren. Links - Ramanspektren der Probe V6 mit  $1 \text{ mg/mL}$  TMBEMPA/Br zur Mineralisationslösung bei  $\text{pH} = 6$  (schwarz) und Literaturspektrum von Brushit (DCPD) (grau, RRUFFID=R070554). Rechts - Ramanspektren der Probe V7,42 mit  $1 \text{ mg/mL}$  TMBEMPA/Br zur Mineralisationslösung bei  $\text{pH} = 7,42$  (rot) und Literaturspektrum von Hydroxylapatit (HAP) (hellrot, RRUFFID=R130713). Die dabei aufgeführten  $\nu$  entsprechen nicht den Meckeschen Symbolen, sondern kennzeichnen lediglich die Schwingung.

Auf den ersten Blick scheint eine gute Übereinstimmung der Spektren zu bestehen. Lediglich die Banden der experimentell ermittelten Werte sind stark verbreitert, weshalb teilweise eine genaue Abgrenzung einzelner Banden nicht erfolgen kann. Konkret können in beiden Spektren Banden der Schwingungen im  $\text{PO}_4^{3-}$  Ion gefunden werden. Die sehr breite Bande bei  $433 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_2 \delta$  O-P-O doppelt entartet), die sehr breiten und überlappenden Banden bei  $590$  und  $618 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_4 \delta$  O-P-O dreifach entartet), die scharfe Bande bei  $966 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_1 \nu_{\text{sym}}$  P-O) und

die sehr breiten Banden  $1015$  und  $1038\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_3 \nu_{\text{antisym. P-O}}$ ) sind dabei charakteristisch für HAP.<sup>233,234</sup> Somit handelt es sich beim Feststoff synthetisiert bei  $\text{pH} = 7,42$  laut Raman-Spektroskopie um HAP. Im Spektrum des Feststoffes synthetisiert bei  $\text{pH} = 6$  sind diese Banden ebenfalls vorhanden jedoch leicht verschoben. Begründet werden kann dies durch die weitere Zuordnung der Banden, denn diese sind charakteristisch für Brushit. Hier liegt die betrachtete P-O bzw. O-P-O Schwingung im  $\text{HPO}_4^{2-}$  - Ion. Den Banden bei  $384$  und  $416\text{ cm}^{-1}$ ,  $526$  und  $590\text{ cm}^{-1}$ ,  $879$  und  $989\text{ cm}^{-1}$  sowie  $1062$ ,  $1083$  und  $1120\text{ cm}^{-1}$  liegen diese Schwingungen zu Grunde. Im Literaturspektrum ist eine Bande bei  $814\text{ cm}^{-1}$  gezeigt. Diese fehlt im Spektrum der vermessenen Probe. Eine zusätzliche Bande in beiden Spektren bei  $1083$  (bei  $\text{pH} = 6$ ) bzw.  $1080\text{ cm}^{-1}$  (bei  $\text{pH} = 7,42$ ) ( $\nu_1 \nu_{\text{sym.}}$ ) ist ein Hinweis auf Substitution durch  $\text{CO}_3^{2-}$  Ionen.

Zusammenfassend weisen also IR- und Ramanspektroskopie auf vorrangig Brushit bei  $\text{pH} = 6$  und auf HAP bei  $\text{pH} = 7,42$  hin. Dies sollte mittels XRD verifiziert werden. Auch hier konnten zwei verschiedene Diffraktogramme ermittelt werden (Abbildung 4.2. 7).



**Abbildung 4.2. 7:** Diffraktogramm der Proben V6 und V7,42. Dabei wurde  $1\text{ mg/mL}$  TMBEMPA/Br zur Mineralisationslösung bei  $\text{pH} = 6$  (schwarz),  $\text{pH} = 7,42$  (rot). gegeben.

Zunächst fällt auf, dass vor allem im Diffraktogramm der Probe bei  $\text{pH} = 7,42$  breitere Reflexe als bei  $\text{pH} = 6$  auftreten. Dies ist zunächst als Hinweis auf Substitutionen im Kristallgitter zu deuten. Im Diffraktogramm des Feststoffes synthetisiert bei  $\text{pH} = 6$  können die relativ scharfen Reflexe mit hoher Intensität bei  $11,6^\circ$  (020),  $20,9^\circ$  (021),  $23,4^\circ$  (040),  $29,3^\circ$  (041),  $30,5^\circ$  (-221),  $34,1^\circ$  (-220) Brushit (ICDD 00-009-0077) zugeordnet werden. Ergänzt wird das Diffraktogramm des Brushits durch eine Vielzahl Reflexe geringer Intensität vor allem bei höherem Beugungswinkel. Zwei zusätzliche Reflexe ähnlicher Intensität bei  $35,4^\circ$  und  $47,9^\circ$  lassen sich nicht eindeutig zuordnen. Teilweise sind auch hier Reflexe dem Brushit zuzuordnen (ICDD 98-009-8804).

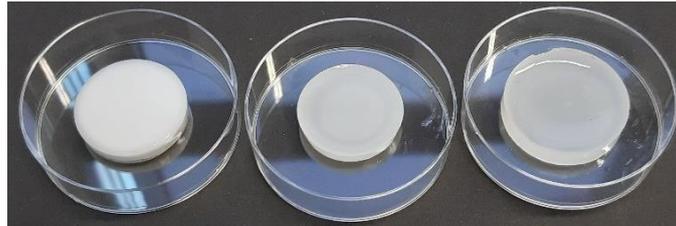
Diese Reflexe sind ebenfalls im Diffraktogramm des Feststoffes synthetisiert bei  $\text{pH} = 7,42$  zu erkennen, jedoch sind diese alle um  $0,1^\circ$  zu höherem Beugungswinkel verschoben. Da aber auch je nach verwendeter ICDD-Nummer die Reflexangaben etwas voneinander abweichen, ist dies nicht weiter von Belang. Dies ist für das HAP deutlicher ausgeprägt. So können beispielsweise für den (210)-Reflex die Positionen  $28,9^\circ$  (ICDD 00-001-1008) und  $29,3^\circ$  (ICDD 98-000-1706) gefunden werden. Als Ursache ist hier die geringere Ordnung, also mehr Defekte, hervorgerufen von Substitutionen im Kristallgitter zu nennen. Dies wird am deutlichsten sichtbar am Reflex bestehend aus drei überlappenden Reflexen im Bereich  $31,3^\circ - 32,2^\circ$ . Zusammen mit den Reflexen  $26,2^\circ$  (002),  $29,3^\circ$  (210),  $32,2^\circ$  (112),  $34,2^\circ$  (202),  $39,8^\circ$  (212/310),  $50,3^\circ$  (213),  $53,7^\circ$  (004) (in Anlehnung ICDD 98-000-1706) können diese dem HAP zugeschrieben werden. Etwaige Unterschiede z.B. der Reflexe bei  $43,4^\circ$  (113),  $46,7^\circ$  (222) ist einem Intensitätsunterschied zwischen dem intensivsten Reflex bei  $11,7^\circ$  und den charakteristischen HAP-Reflexen zuzuschreiben. Dies trifft auch auf mögliche Reflexe des OCPs zu. Diese Reflexe (ICDD 98-006-5347)  $9,4^\circ$  (010),  $9,8^\circ$  (011),  $16,1^\circ$  (110),  $24,3^\circ$  (12-1) sind maximal durch Überinterpretation im Untergrund des Diffraktogramms zu erahnen.

Analoge Ergebnisse mit allen beschriebenen Methoden lieferten auch die Blindproben ohne Zusatz und die Probe mit Monomierzusatz, welche in der von mir betreuten Bachelorarbeit von S. Gerhardt entstanden sind.<sup>226</sup>

Zusammenfassend kann folglich gesagt werden, dass die Monomere und der Vernetzer keinen signifikanten Einfluss auf die entstehenden Phasen haben. Bei einem pH-Wert von 6 bildet sich vorrangig das Brushit aus. Wohingegen bei pH 7,42 primär Hydroxylapatit gebildet wird. Jedoch sind auch hier einzelne Kristalle des Brushits zu finden.

#### 4.2.2 Calciumphosphatmineralisation: Alternierendes Eintauchverfahren

Nachdem der Einfluss der Monomere auf die Mineralisation von Calciumphosphat in Lösung analysiert wurde, erfolgte die Matrix gesteuerte Mineralisation im Hydrogel. Über das alternierende Eintauchverfahren (engl. „*alternate soaking methode*“) können dann Hybridmaterialien generiert werden. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit stellt das Hybridsystem aus den Hydrogelen der B-Reihe (B100, B50 und B10) mineralisiert mit Calciumphosphat bei  $\text{pH} = 7,42$  den Mittelpunkt dar (Abbildung 4.2. 8).



**Abbildung 4.2. 8:** Eigenes Foto vom 27.09.2019. Über das alternierende Eintauchverfahren bei  $\text{pH} 7,42$  mineralisierte Hydrogel B100 ( $\varnothing 2,8 \text{ cm}$ ), B50 ( $\varnothing 2,8 \text{ cm}$ ) und B10 ( $\varnothing 3,2 \text{ cm}$ ) von links nach rechts.

Hier wurden die Hydrogele zunächst in  $0,1 \text{ M CaCl}_2$  Lösung gelegt und nach 24 h durch den Sørensenpuffer mit einem  $\text{pH}$ -Wert von  $7,42$  ausgetauscht. Dieser wurde dem natürlichen  $\text{pH}$ -Wert von Blut bzw. -plasma nachempfunden. Details zu den Mineralisationsstrategien sind dem Kapitel 7.5 zu entnehmen. Innerhalb der ersten Minuten erfolgte eine weiße Trübung der Hydrogele. In der umgebenden Lösung war nur im Ausnahmefall die Bildung eines weißen und feinen Feststoffes zu beobachten. Nach 24 h Stunden sind die Hybridmaterialien im Durchschnitt ca.  $0,2 \text{ cm}$  (B100 und B50) bzw.  $0,4 \text{ cm}$  (B10) breiter im Durchmesser als die reinen Hydrogele. Auch das Gewicht erhöht sich um ca.  $1,00 \text{ g}$  (B100), „nicht bestimmbar“ (B50) und  $0,5 \text{ g}$  (B10).

#### Mineralisationsanalytik mittels optischer Lichtmikroskopie

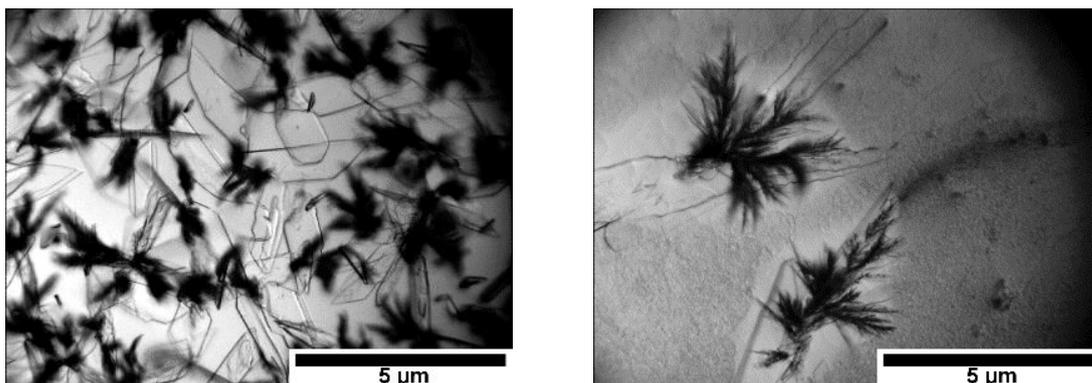
Diese Trübung wurde zunächst mittels optischer Lichtmikroskopie verfolgt. Dies stellte sich als Herausforderung dar. Grund hierfür war die Mineralisation in verschiedenen Ebenen des Hydrogels und die zunehmende Trübung des Materials. Daraus folgte eine ungenügende Fokussierung des Mineralisationsprozesses, was in unscharfen Aufnahmen resultierte. Daher erfolgt die Beschreibung der Ergebnisse an exemplarischen Bildern.

Bei einem  $\text{pH}$ -Wert von sechs während der Mineralisation dominierten annähernd sphärische, flocken- und plättchenförmige Strukturen das Bild. Dabei konnte keine Abhängigkeit der Morphologie zum Hydrogeltyp festgestellt werden, jedoch variierte die Quantität und Homogenität. B10 eignete sich dabei nicht zur Beschreibung als Mineralisationsmatrix, da die Ausbildung von Strukturen inhomogen, in verschiedenen Ebenen

und in geringer Anzahl erfolgte. Daher soll folgend vor allem auf die Mineralisation auf der Oberfläche von B50 und B100 eingegangen werden.

Konkret bildete sich direkt nach der Zugabe des Puffers ein einheitlicher Film auf der Hydrogeloberfläche des B50s aus und das Material trübte sich zusehends. Die Strukturgröße lag in den meisten Fällen jenseits der Auflösungsgrenze des Mikroskops, daher konnte die Form nur hypothetisch anhand weniger Beispiele als sphärisch notiert werden. Bereits nach 1 h waren diese einheitlichen Strukturen durch größere Aggregate unterbrochen. Zum Teil traten auch erste erkennbare Strukturen auf. In den meisten Fällen handelte es sich hier um rechteckige bzw. quaderförmige Gebilde. Nach 4 h war die komplette Oberfläche von großen Strukturen überzogen. Diese setzten sich aus kristallinen Plättchen und etwas tiefer liegende flockenartige Gebilde zusammen. Jedoch konnte dies nur an der Oberfläche beobachtet werden. In tieferen Schichten war keine Veränderung zu erkennen. Auch in der umgebenden Lösung waren ähnliche Ansammlungen von Plättchen zu erkennen. Nach einem Tag waren die flockenförmigen Strukturen etwas gröber und erschienen eher klumpig. Darüber lagen jedoch plättchenartige Gebilde. Auch in den nächsten Tagen schienen lediglich die flockenförmigen Gebilde zu wachsen bzw. zu verwachsen.

Analog kann die Mineralisation auf der Hydrogeloberfläche des B100s beschrieben werden. Jedoch war der beschriebene Film nach Zugabe des Puffers inhomogener und mengenmäßig geringer ausgeprägt. Ebenfalls konnten nach 4 h große Strukturen zusammengesetzt aus zwei Teilstrukturen beobachtet werden. Diese waren eventuell etwas größer und zum Teil filigraner ausgeprägt als beim B50. Hier war nicht die gesamte Oberfläche bedeckt, da einige Bereiche kaum bewachsen sind. Der Vergleich dieser Doppelstrukturen ist in der nachfolgenden Abbildung 4.2. 9 visualisiert.

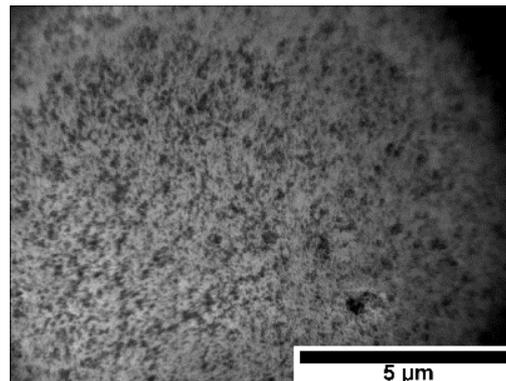


**Abbildung 4.2. 9:** Repräsentative Abbildung der Mineralisationsverfolgung mittels optischer Lichtmikroskopie bei  $pH = 6$ . Links – B50 nach 4 h; Rechts – B100 nach 4 h.

Auf der Hydrogeloberfläche des B100 (Abbildung 4.2. 9 rechts) fällt auf, dass um diese flocken- und plättchenartigen Strukturen der einheitliche Film unterbrochen vorliegt. Dies spricht für eine Umwandlung dieser Morphologie zu den filigranen Strukturen. Einige Strukturen im einheitlichen Film sind kleiner als  $1 \mu m$  groß und von undefinierbarer Morphologie. Doch auch

hier konnte eine Ausdünnung in direkter Umgebung beschrieben werden. Dies unterstützt die Hypothese der Strukturumwandlung. Außerdem sind die Plättchen in deutlich geringer Anzahl als auf dem B50 zu finden.

Bei einem pH-Wert = 7,42 während der Mineralisation dominiert die Bildung des beschriebenen einheitlichen Films auf der Hydrogeloberfläche, welcher durch etwas größere Strukturen unterbrochen wird (Abbildung 4.2. 10). Innerhalb der nächsten Stunden erhöhte sich lediglich die Anzahl der Kristalle pro Fläche. Im Falle des B100s waren zudem vereinzelt filigrane Kristalle und Plättchen zu erkennen.



**Abbildung 4.2. 10:** Repräsentative Abbildung der Mineralisationsverfolgung mittels optischer Lichtmikroskopie bei  $pH = 7,42$  am Beispiel B100.

Somit ist mit dieser Methode keine direkte Abhängigkeit der Morphologie des Feststoffes von der verwendeten Matrix zu erkennen. Der pH-Wert zeigt aber einen Einfluss auf die Mineralisation. So spricht die dominierende flocken- und plättchenförmige Morphologie bei  $pH = 6$  für DCPD und die sphärischen Strukturen für HAP (vgl. Kapitel 2.1.1). Möglich wäre hier zudem auch ACP, da diese auch sphärisch beschrieben werden. Dagegen spricht die kinetische Instabilität des ACPs. Die sphärischen Strukturen waren über Tage nachweisbar.

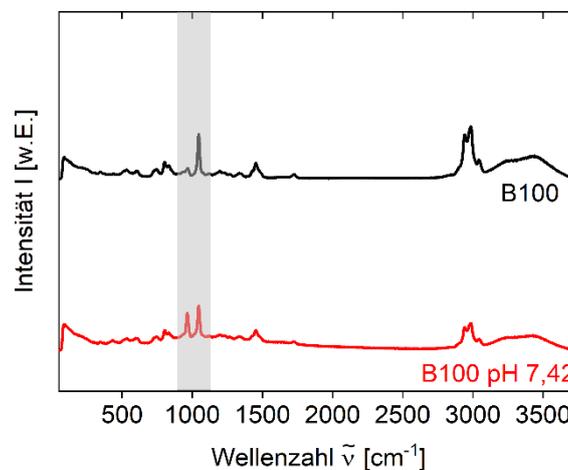
Diese Hybridmaterialien konnten sowohl qualitativ mittels IR-Spektroskopie, Raman-Spektroskopie und XRD als auch quantitativ mittels TGA analysiert werden.

### **Qualitative Analytik mittels IR- und Ramanspektroskopie und XRD**

Die qualitative Analytik mittels IR-Spektroskopie lieferte dabei keine Ergebnisse, da keine zusätzlichen Banden im Spektrum im Vergleich zum reinen Netzwerk detektiert werden konnten. Eine Überlagerung der entscheidenden Banden ist dabei entscheidend. Zum Beispiel können im Bereich  $3500 - 3000 \text{ cm}^{-1}$  die OH-Streckschwingung ( $\nu\text{-OH}$ ) des Brushits nicht ausgewertet werden, da Restwasser des Hydrogels diese vollständig überlagerten. Des Weiteren wurden charakteristische Schwingungen im Phosphat bzw. Hydrogenphosphat im Bereich um ca.  $1030 \text{ cm}^{-1}$  und zwischen  $600\text{-}520 \text{ cm}^{-1}$  durch C-C-Streckschwingungen und Gerüstschwingungen sowie verschiedenste S-O-Schwingungen überdeckt. Zudem waren die

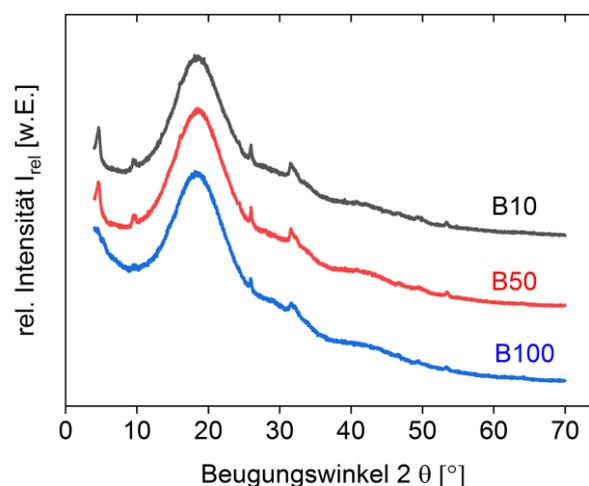
Banden stark verbreitert, da ein polares Solvenz vorlag. Diese Kombination machte eine Auswertung der IR-Spektren hinsichtlich des entstandenen weißen Feststoffs unmöglich.

Mittels Raman-Spektroskopie (Abbildung 4.2. 11) konnten ebenfalls keine Aussagen über die entstandene Modifikation des Calciumphosphats getroffen werden. Auch hier sind alle Banden im Spektrum des Hybridmaterials nahezu identisch mit dem des Hydrogels. Lediglich die Bande bei  $964\text{ cm}^{-1}$  weist eine erhöhte Intensität im Vergleich zum reinen Netzwerk auf. Diese kann der sym. P-O-Streckschwingung im Phosphation zugeordnet werden. Alle anderen literaturbekannten Schwingungen des DCPDs oder HAPs können nicht eindeutig zugeordnet werden, da diese mit den Schwingungen des Netzwerks deckungsgleich sind (vgl. Kapitel 4.1.4).



**Abbildung 4.2. 11:** Repräsentatives Raman-Spektrum am Beispiel des Hydrogels B100 (schwarz) und der Hybridmaterialien hergestellt bei  $\text{pH} = 7,42$  (rot).

Um daher die Modifikation zuordnen zu können, wurden Diffraktogramme mittels XRD aufgenommen (Abbildung 4.2. 12).

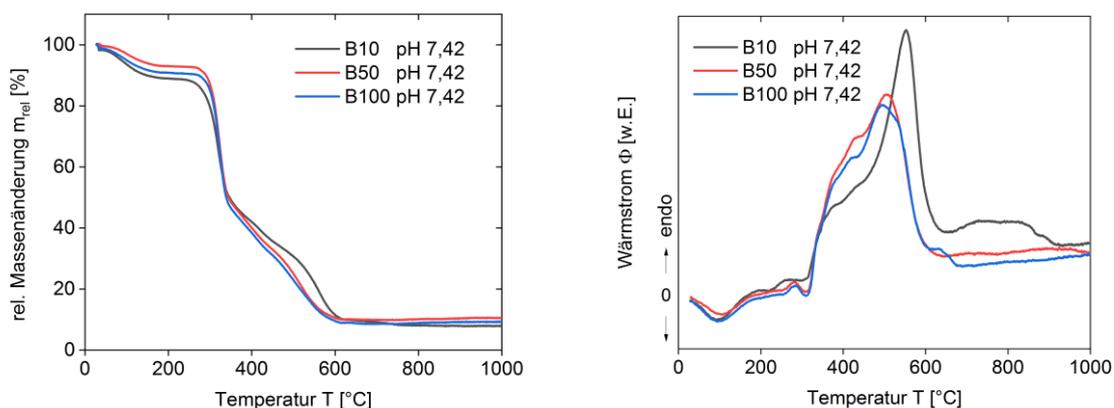


**Abbildung 4.2. 12:** Repräsentative Diffraktogramme der Hybridmaterialien B10 (schwarz), B50 (rot) und B100 (blau) mineralisiert bei  $\text{pH} = 7,42$ .

Zunächst können keine signifikanten Unterschiede der Diffraktogramme beschrieben werden. Der sehr breite Reflex mit einem Maximum zwischen 18 und 19° kann dem amorphen Netzwerk, genauer gesagt den teilkristallinen Bereichen des Vernetzers, zugeordnet werden. Dies wurde bereits in der vorangegangenen Masterarbeit beschrieben.<sup>211</sup> Des Weiteren können mindestens vier breite Reflexe beobachtet werden. Dazu gehören Reflexe bei 9,4° (010) und 9,7° (011), welche dem OCP zugeschrieben werden können. Die weiterhin charakteristischen Reflexe bei 16,1° (110) und 24,3° (12-1) gemäß ICDD 98-006-5347 sind entweder verdeckt oder lediglich beim B50 mit geringer Intensität zu erkennen. Weitere Reflexe bei 26,0° (002), im Bereich 31,6-32,2° (112/202), 39,1° (212/310) und 53,7° (004) sind in Anlehnung an ICDD 98-000-1706 dem HAP zuzuordnen. Dies erklärt auch die starke Verbreiterung der Reflexe, welche aufgrund der variablen Kristallgitter des HAP zustande kommt. Somit hat die Wahl des Netzwerks und die damit verbundene Vernetzerdichte keinen Einfluss auf die Calciumphosphat Modifikation.

### Quantitative Analytik mittels TGA

Quantitativ erfolgte die Analytik mittels TGA. Der Verlauf zeigt keine signifikanten Unterschiede zu dem Verlauf der reinen Hydrogele auf. Hier konnte aber eine unterschiedliche Restmasse in Abhängigkeit der Probe ermittelt werden (Abbildung 4.2. 13).



**Abbildung 4.2. 13:** Quantitative Analyse des anorg. Anteils im Hybridmaterial mittels TGA (links) und DTA (rechts) für die Mineralisation bei pH 7,42.

Da qualitativ bestätigt wurde, dass verschiedene Calciumphosphatmodifikationen vorliegen, handelt es sich bei der Restmasse um Pyrophosphat ( $P_2O_7^{4-}$ ). Dieses Diphosphatanion wird bei hoher Temperatur unter Abspaltung von  $H_2O$  aus zwei Äquivalenten Hydrogenphosphat ( $HPO_4^{2-}$ ) gebildet. Aufgrund der unbekannt genauen Zusammensetzung kann daraus nur eine Abschätzung bezüglich der Menge an HAP gewonnen werden. Vereinfacht wurde daher mit der Konzentration an Calcium gerechnet. Die Berechnung ist folgend am Beispiel der Proben B100 mineralisiert bei pH = 7,42 gezeigt. Bei einer Restmasse von 10 % ergibt sich eine Stoffmenge  $n$  vom Pyrophosphat von 0,34 mmol bezogen auf die mittlere Xerogelmasse

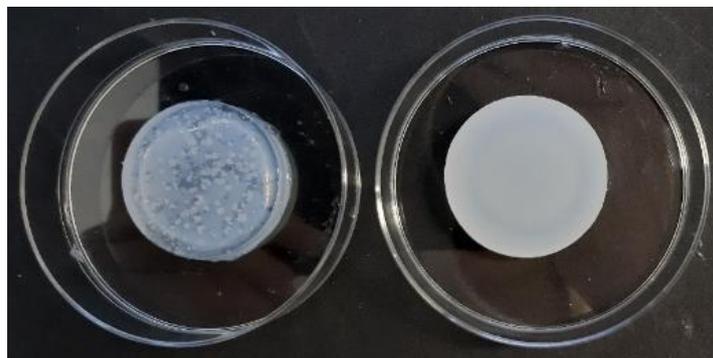
von 0,86 g. Unter der theoretischen Annahme, dass das Hybridmaterial vollständig mit HAP mineralisiert wurde, besteht ein Verhältnis vom Calcium im Pyrophosphat zu Calcium im HAP von 2 : 5. Daher können aus 0,34 mmol Ca im Pyrophosphat 0,14 mmol Ca im HAP gebildet werden. Mit einer theoretischen Molmasse von 502,31 g/mol für HAP ergibt sich eine Menge von 68 mg. Gemäß dieser Berechnung wären 64 mg (B10) bzw. 84 mg (B50) enthalten. Diese Zahlen sind deutlich niedriger als die gravimetrisch ermittelten Unterschiede im Gewicht. Dies ist zurückzuführen auf die Annäherungen und den veränderten Wassergehalt aufgrund von Quellen bzw. Schrumpfen. Bezogen auf das jeweilige Xerogel ergibt sich daraus ein Anteil von 6 % (B10), 9 % (B50) und 8 % (B100) des Minerals im Hybridmaterial. Diese Werte deuten auf eine bessere Mineralisierbarkeit des B50s. Zurückzuführen ist dies auf die Kombination aus Maschenweite und Optimum der elektrostatischen Wechselwirkungen.

In der DTA-Kurve (Abbildung 4.2. 13 rechts) können vorrangig endotherme Signale detektiert werden, welche den schrittweisen Abbau des Netzwerks und bei Temperaturen oberhalb 600°C die Umwandlung zum Pyrophosphat beinhalten. Auch an dieser Stelle fällt die Einteilung in zwei grundlegende Verlaufsformen auf. B50 und B100 weisen einen annähernd identischen Verlauf auf, wohingegen B10 deutlich prägnantere endotherme Signale ausweist. Dies bestätigt wiederum die strukturellen Ähnlichkeiten zwischen B50 und B100, welche in Kapitel 4.1 beschrieben wurden.

### **Variation der Mineralisationsparameter**

Die Hybridmaterialien konnten nun durch Variation der Mineralisationsparameter synthetisiert werden. Dazu gehörten der pH-Wert, Temperatur und Konzentration.

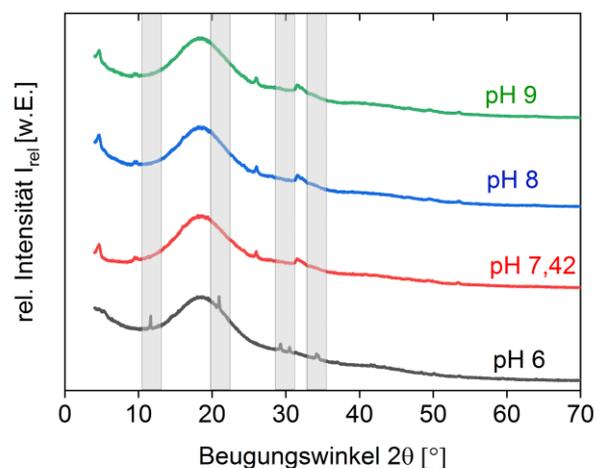
Infolge der Variation des pH-Wertes waren zwei grundlegende Hybridmaterialien zu unterscheiden. So konnten bei einem pH-Wert von fünf für alle Hydrogeltypen makroskopisch keine Bildung eines Feststoffes dokumentiert werden. Erst bei einem pH-Wert = 6 wiederum war eine weiße Trübung mit einzelnen nadelförmigen und farblosen Kristallen zu beobachten (Abbildung 4.2. 14 links). Bei einem pH-Wert von 7,42 bis neun wurde wieder ein vollständig weißes Hybridmaterial erhalten (Abbildung 4.2. 14 rechts).



**Abbildung 4.2. 14:** Eigenes Foto vom 27.09.2019. Über das alternierende Eintauchverfahren mineralisierte Hydrogel am Beispiel B50. Links – bei pH = 6 (Ø 2,9 cm); Rechts – bei pH = 7,42 (Ø 2,8 cm).

Der unterschiedliche pH-Wert wirkte sich zudem auf den Durchmesser der Materialien aus. So war generell bei pH-Wert = 6 ein größerer Durchmesser zu beobachten. Dies zeigte beim B10 die deutlichste Ausprägung (ca. 0,6 cm Unterschied), wohingegen B100 hier keine signifikanten Abweichungen (0,1 cm können der Messungenauigkeit zugeordnet werden) zeigte. Bei allen anderen untersuchten pH-Werten war keine signifikante Abhängigkeit vorhanden. Erklärt werden kann dies zunächst nicht über die Hofmeister Serie, denn hier müsste bei einem höheren Anteil an  $\text{HPO}_4^{2-}$  - Ionen der kosmotrope Effekt überwiegen. Dies hätte eine Streckung der Seitenketten zur Folge, wodurch der Durchmesser bei höherem pH-Wert größer sein müsste. Somit kann dieses Phänomen hypothetisch nur über den pH-Wert erklärt werden. Demzufolge müssten ein erhöhter Anteil an  $\text{H}^+$  - Ionen, aufgrund der mehrheitlich positiven Ladung des Netzwerks, eine Streckung der Ketten durch repulsive Wechselwirkungen hervorrufen. Dies liefert auch gleich die Begründung für den stärkeren Effekt beim B10 mit. Hier ist der Anteil an positiven Ladungen infolge des erhöhten Anteils des Vernetzers ebenfalls erhöht.

Weiterhin können auch hier keine Aussagen über die entstandene Modifikation mittels IR-Spektroskopie getroffen werden. Dies ist lediglich, wie auch bereits zuvor beschrieben, mittels XRD möglich (Abbildung 4.2. 15).



**Abbildung 4.2. 15:** Vergleich der Diffraktogramme der Hybridmaterialien synthetisiert durch Variation des pH-Wertes im Bereich 6-9 am Beispiel des B100s.

Hier zeigen sich zwei grundlegende Diffraktogramme. Bei einem pH-Wert von 7,42 bis neun können OCP und HAP anhand der zuvor aufgeführten charakteristischen Reflexe zugeordnet werden. Im Kontrast dazu ist lediglich der Reflex bei  $16,1^\circ$  (110) des OCP bei pH = 8 deutlicher zu erkennen. Beim Hybridmaterial synthetisiert bei pH = 6 sind völlig andere Reflexe mit deutlich schärferer Ausprägung zu beobachten. Reflexe bei  $11,6^\circ$  (020),  $20,9^\circ$  (021),  $29,3^\circ$  (041),  $30,5^\circ$  (-221) und  $34,1^\circ$  (-220) können alle dem Brushit (ICDD 00-009-0077) zugeordnet werden. Lediglich der Reflex bei  $23,4^\circ$  (040) konnte aufgrund der geringen Intensität und dem

breiten amorphen Reflex des Netzwerks nicht detektiert werden. Somit hat hier der pH-Wert einen literaturbekannten Einfluss auf die Modifikation des Calciumphosphats. Doch auch hier ist kein signifikanter Einfluss des Netzwerks festzustellen. Ausschließlich die Intensität der Reflexe variiert.

Die quantitative Analytik mittels TGA ist in der nachfolgenden Tabelle 4.2. 1 zusammengefasst.

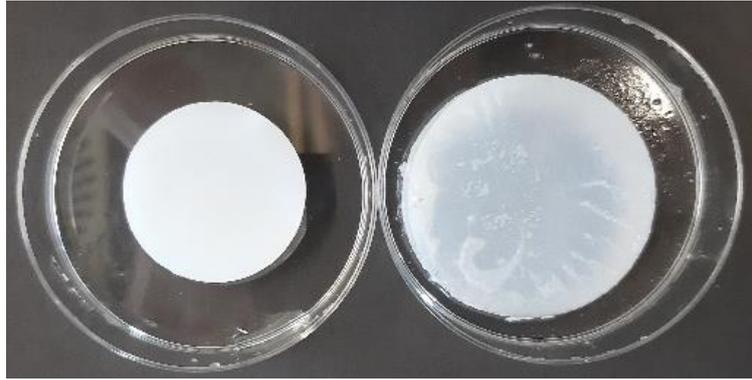
**Tabelle 4.2. 1:** Quantitative Analytik mittels TGA. Bestimmung der Restmasse in Abhängigkeit vom pH-Wert während der Mineralisation.

Mineralisations- bedingung pH-Wert	Restmasse im Xerogel [%]			Anorg. Anteil im Xerogel [%]		
	B10	B50	B100	B10	B50	B100
6,00*	12	14	8	16	19	10
7,42	8	11	10	6	9	8
8,00	8	9	7	6	7	5
9,00	9	8	12	7	6	8

\* - Bei einem pH = 6 ist die vorherrschende Modifikation Brushit, daher wurde die Berechnung darauf bezogen. Hier ist das Ca-Verhältnis im Pyrophosphat zum Brushit 2:1.

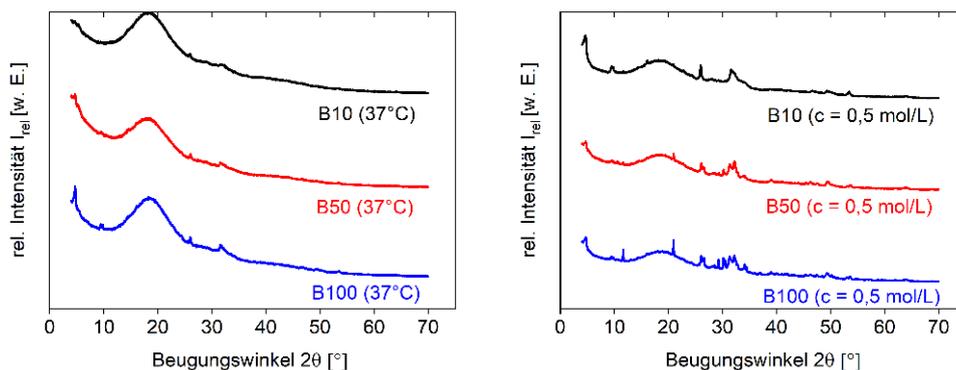
Dabei variiert die Restmasse im Bereich von 8-14 % je nach pH-Wert und Hydrogeltyp. Auffällig ist, dass B50 die höchste Restmasse in jeder Kategorie, Ausnahme pH = 9, zeigt. Ansonsten kann kein klarer Trend bezüglich der verwendeten Netzwerke und dem Anteil an mineralisiertem Feststoff erkannt werden. Lediglich bei pH = 6 können höhere anorg. Anteile gefunden werden. Begründet werden kann dies mit dem kleinen Verhältnis der  $\text{Ca}^{2+}$  Ionen im gebildeten Brushit. Außerdem ist das Netzwerk, wie oben beschrieben, etwas gestreckter. Dadurch ist auch Raum für die Kristallreifung gegeben.

Des Weiteren wurden die Temperatur und die Konzentration variiert. In Anlehnung an die Körpertemperatur wurde bei 37°C mineralisiert. Die Konzentration des  $\text{CaCl}_2$  wurde verfünffacht, um einen möglichst großen Effekt zu erzeugen. Makroskopisch unterschieden sich die resultierenden Hybridmaterialien (Abbildung 4.2. 16). So kann durch Erhöhung der Temperatur ein gleichmäßiger weißer Überzug beobachtet werden, wohingegen die Konzentrationserhöhung einen ungleichmäßigen und leicht ablösbaren Feststoff generiert. Außerdem war in diesem Fall auch der Ausfall eines Feststoffs in der Lösung zu erkennen. Dies war bei allen anderen Bedingungen nicht zu beobachten.



**Abbildung 4.2. 16:** Eigenes Foto vom 10.10.2019 zur Variation der Mineralisationsparameter am Beispiel des B50s. Links - Erhöhung der Temperatur resultiert in einem kompakten weißen Überzug (Ø 2,9 cm). Rechts - Erhöhung der Konzentration bewirkt verstärkten Ausfall in Lösung, Überzug leicht abzulösen, Tiefenmineralisation erkennbar (Ø 3,9 cm).

Die Diffraktogramme der Hybridmaterialien unterschieden sich ebenfalls (Abbildung 4.2. 17). So können durch Temperaturerhöhung wiederum nur die bereits beschriebenen Reflexe für HAP und OCP detektiert werden. Dagegen führt eine Konzentrationserhöhung zu einer Vielzahl an Reflexen und Intensitäten. Die anorg. Komponente im B10 weist dabei vereinzelte Reflexe von OCP, HAP und Brushit auf. Aufgrund einer ausgeprägten Untergrundstreuung ist eine eindeutige Definition aller Reflexe nicht möglich. Die Anzahl der Reflexe nimmt von B50 zu B100 zu. Vor allem die Reflexe des Brushits sind stärker ausgeprägt. Dennoch scheint auch hier eine Mischung aus OCP, HAP und Brushit zu bestehen. Zudem können beispielsweise die Reflexe bei  $49,5^\circ$  (213) und  $64,0^\circ$  (304/323) einem weiteren möglichen Streumuster des HAPs zugeordnet werden (ICDD 00-001-1008).



**Abbildung 4.2. 17:** Diffraktogramme der Hybridmaterialien. Links – durch Erhöhung der Temperatur auf  $37^\circ\text{C}$ ; Rechts – durch Erhöhung der Konzentration auf  $0,5\text{ mol/L}$ .

Auch in diesem Fall wurde das Hybridmaterial quantitativ analysiert (Tabelle 4.2. 2). Daraus wird ersichtlich, dass eine Temperaturerhöhung keinen signifikanten Einfluss auf den anorg. Anteil zeigt. Es konnten erneut 8 – 11 % Mineralanteil bestimmt werden.

Demgegenüber ist der anorg. Anteil infolge einer Konzentrationserhöhung bis auf 17 % erhöht. Dies ist insofern bemerkenswert, da somit eine Verfünffachung der Konzentration nur eine Verdopplung der anorg. Komponente hervorruft. Denkbar ist hier, dass aufgrund der erhöhten Konzentration die Mineralisation sprunghaft an der Oberfläche erfolgt. Diese anorg. Schicht verhindert eine weitere Diffusion der Ionen in das Gelinnere. Belegt werden kann dies auch über den Ausfall eines Feststoffes in der umgebenen Lösung. Der Vollständigkeit halber ist hier auch die Mineralisation in inverser Reihenfolge der Salzlösungen gezeigt. Dies hat einen leicht verringerten anorg. Anteil von ca. 6 % zur Folge. Dies wurde bereits in der Literatur beschrieben. Zusammengefasst ist die Diffusion des sterisch anspruchsvolleren Phosphations vermindert.

**Tabelle 4.2. 2:** Quantitative Analytik mittels TGA. Bestimmung der Restmasse in Abhängigkeit vom Mineralisationsparameter Ionenreihenfolge, Konzentration oder Temperatur.

Mineralisationsbedingung	Restmasse im			Anorg. Anteil im Xerogel [%]		
	Xerogel [%]			B10	B50	B100
*Zuerst $\text{Ca}^{2+}$	8	11	10	6	9	8
zuerst $\text{PO}_4^{3-}$	8	7	9	6	6	6
c = 0,5 mol/L	21	22	25	17	17	17
T = 37°C	8	7	11	6	6	7

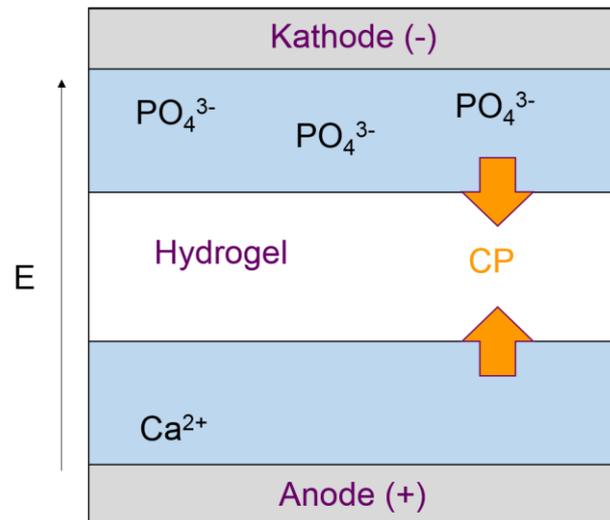
\* - gleichbedeutend mit Hybridmaterial synthetisiert bei pH = 7,42.

### 4.2.3 Alternative Mineralisationsprozesse

Durch das alternierende Eintauchverfahren konnten also erfolgreich Hybridmaterialien synthetisiert werden. Nachteil jedoch ist die fehlende Eindringtiefe der anorg. Phase. Daher sollen in diesem Teilkapitel Möglichkeiten zur vollständigen Mineralisation in der Hydrogelmitte vorgestellt werden.

Bereits in der vorangegangenen Arbeit konnte das Prinzip der doppelten Diffusion an analogen Systemen demonstriert werden.<sup>211</sup> Dieses Prinzip kann auch für diese Hydrogele angewendet werden. Analoge Herangehensweisen sind im Kapitel 4.4.2 im Bereich Osmose dargestellt. An dieser Stelle soll die Mineralisierung im elektrischen Feld vorgestellt werden. Dazu wurde eine horizontale Gelelektrophorese verwendet, in der die Gelmatrix aus Agarose, Polyacrylamid oder Stärke durch das vorgestellte Betaingel ausgetauscht wurde. Die Methodik ist in der Abbildung 4.2. 18 schematisch gezeigt. Das Hydrogel wird auf der Kathodenseite von einer phosphathaltigen Lösung und von der Anodenseite von einer calciumhaltigen Lösung

umspült. Durch Anlegen des elektrischen Feldes wandern die Ionen gemäß ihrer Ladung zur jeweils gegenüberliegenden Seite. In der Theorie treffen sich die Ionen in der Gelmitte und mineralisieren dort.



**Abbildung 4.2. 18:** Schematische Darstellung der Mineralisation im elektrischen Feld.

Zu Beginn wurde das Hydrogel schon in  $\text{Ca}^{2+}$ -Lösung gequollen, wie es z.T. in der Literatur beschrieben wurde.<sup>235</sup> Am oberen Gelende bildete sich nach kürzester Zeit erfolgreich ein weißer Feststoff aus (Abbildung 4.2. 19).



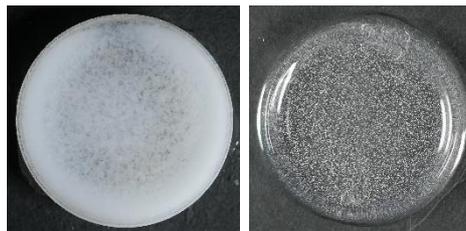
**Abbildung 4.2. 19:** Eigenes Foto vom 23.06.2016 zur Mineralisation im elektrischen Feld.

So konnte gezeigt werden, dass diese Mineralisationsstrategie zwar prinzipiell funktioniert, jedoch eine Variation der Parameter (z.B. Konzentration, Konditionierung des Gels etc.) notwendig ist, um eine Mineralisation im Gellinneren hervorzurufen.

#### 4.2.4 Calciumcarbonat-Mineralisation

Die matrixgesteuerte Mineralisation von Calciumcarbonat stellt keinen Schwerpunkt dieser Arbeit da. Jedoch konnte im Zuge einer Kooperation mit der Gruppe um Timothy Douglas ein Projekt initiiert werden, in dem die ultraschallunterstützte Mineralisation von Calciumcarbonat in den beschriebenen SPE-Hydrogelen behandelt wird. Daher sollen in diesem Teilkapitel dieses Projekt und Vergleichsmessungen vorgestellt werden, um die Rolle des Ultraschalls während der Mineralisation einschätzen zu können.

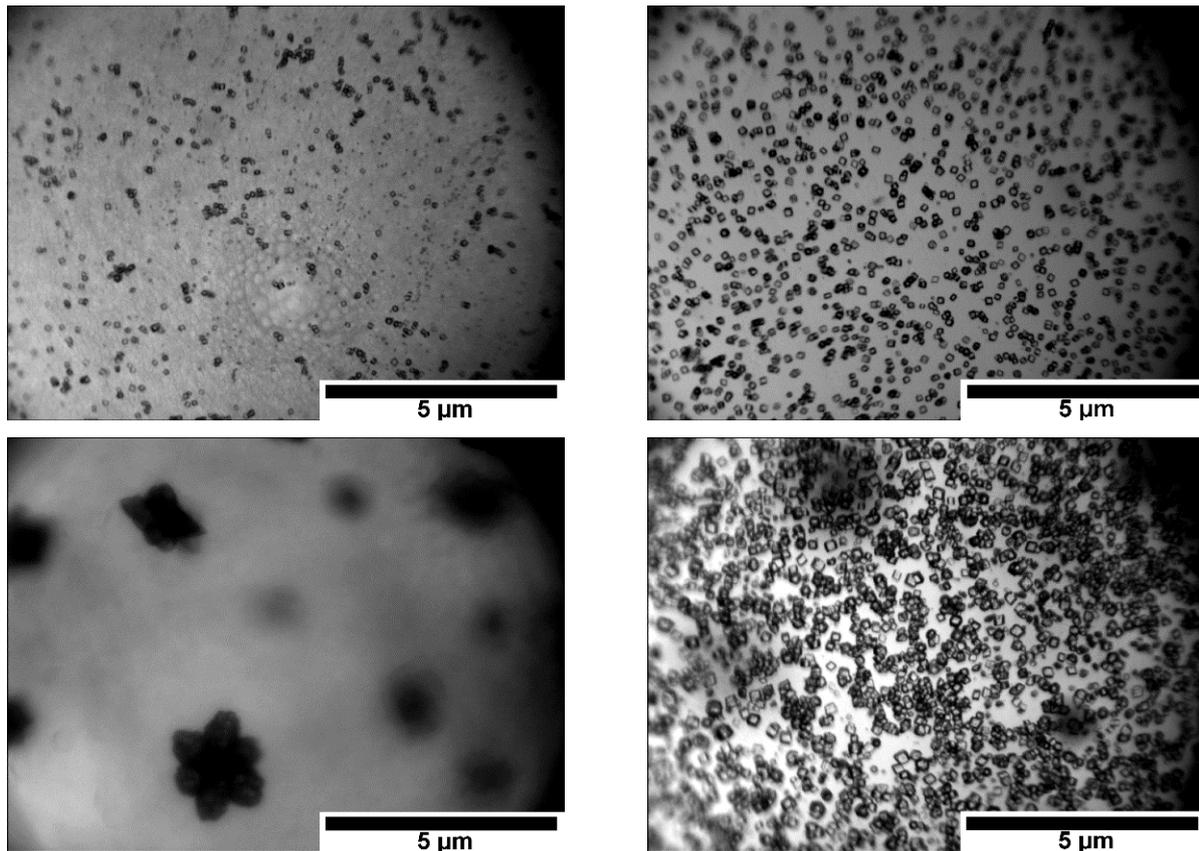
Auch hier konnten über das alternierende Eintauchverfahren zunächst weiße Hybridmaterialien generiert werden (Abbildung 4.2. 20 links). Innerhalb der nächsten 24 h bildeten sich dann Partikel aus (Abbildung 4.2. 20 rechts). Zur Erklärung dieses Phänomens können entweder die Ostwald-Reifung oder eine Phasenumwandlung herangezogen werden. Um dies verifizieren zu können wurde die Mineralisation mittels optischer Lichtmikroskopie verfolgt. Am Beispiel des B100 als Matrix sollen hier die Ergebnisse vorgestellt werden.



**Abbildung 4.2. 20:** Eigenes Foto vom 23.02.2018 zur makroskopischen Veränderung der Hybridmaterialien am Beispiel B100. Links- weißes Hybridmaterial mit unregelmäßiger Trübung im Gellinneren; Rechts – Transparentes Material mit Fettsstoffpartikeln im Gellinneren.

Hier zeigte sich, dass bereits nach wenigen Sekunden Kontakt der zweiten Mineralisationslösung (hier: Natriumcarbonat-Lsg.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (aq)) mit dem Hydrogel erste würfelförmige Feststoffe im Größenbereich von 100 nm entstanden. Nach einer Stunde war die Anzahl der Kristalle deutlich erhöht. Lediglich einige wenige Kristalle waren etwas größer als zuvor. Außerdem waren nach 4 h blumenartige Kristalle im Gellinneren zu beobachten. Diese sind ca. 2,5  $\mu\text{m}$  hoch und ca. 1,8  $\mu\text{m}$  breit (Abbildung 4.2. 21).

Ein analoges Verhalten war bei den Gelen B50 und B10 zu erkennen. Einzige Unterschiede sind, dass im Falle des B10 deutlich weniger Kristalle gebildet wurden und die beschriebene Aggregation im Gellinneren nicht zu beobachten war.

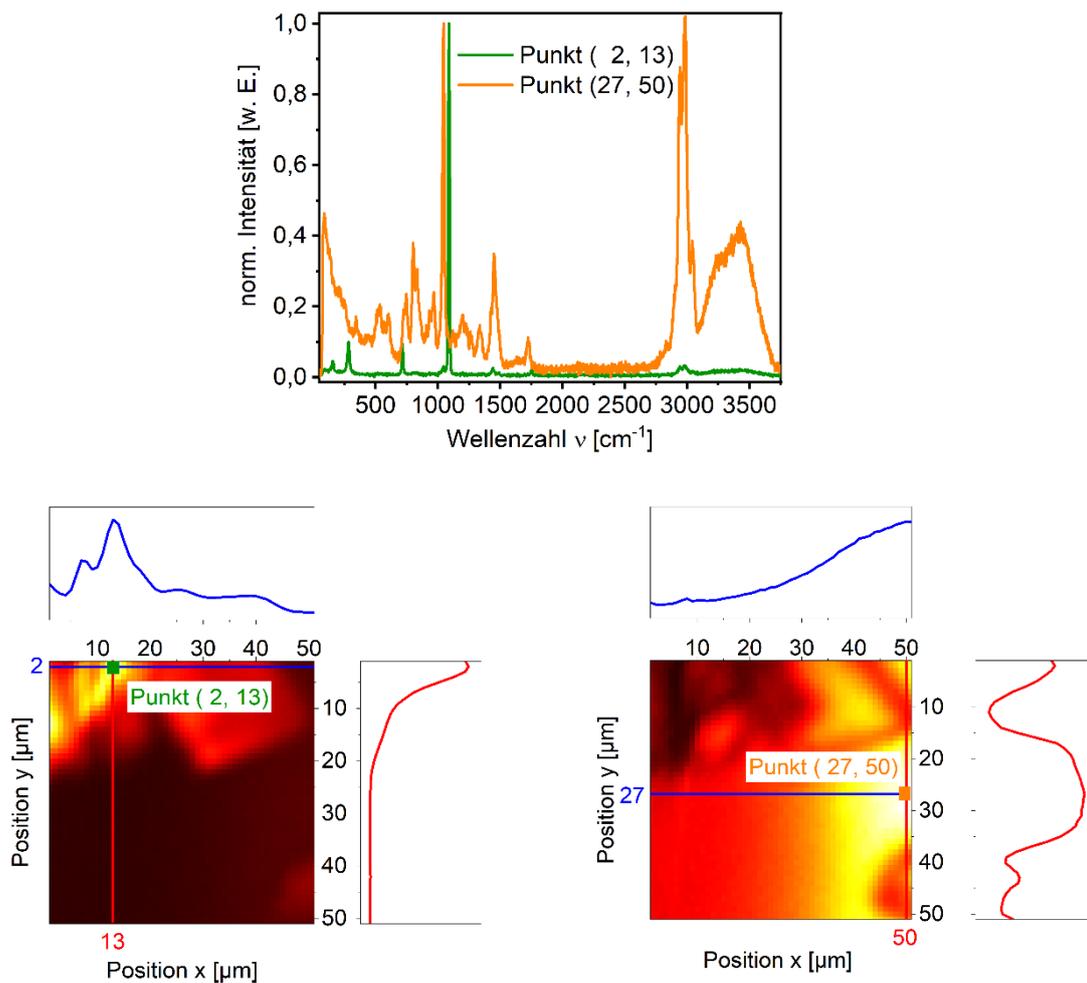


**Abbildung 4.2. 21:** Aufnahmen der optischen Lichtmikroskopie zur Mineralisation von Calciumcarbonat am Beispiel von B100. Links oben - sofort; Rechts oben - nach 1 h; Links unten – nach 4 h im Hydrogellinneren; Rechts unten– nach 24 h.

Da keine Änderung der Morphologie zu beobachten ist, kann eine Phasenumwandlung an dieser Stelle eher ausgeschlossen werden. Lediglich die Ostwald-Reifung ist zu erkennen, da kleine Kristalle mit fortschreitender Zeit immer weniger werden und größere entstehen.

Es ist jedoch anzumerken, dass die blumenartigen Kristalle im Gelinneren für eine zweite Phase des Calciumcarbonats sprechen. Um dies qualitativ überprüfen zu können wurden IR- und Ramanspektren sowie Diffraktogramme aufgenommen. Mittels IR-Spektroskopie konnten, wie auch schon für die Mineralisation von Calciumphosphat, keine Bandenzuordnungen bezüglich der Carbonate gemacht werden.

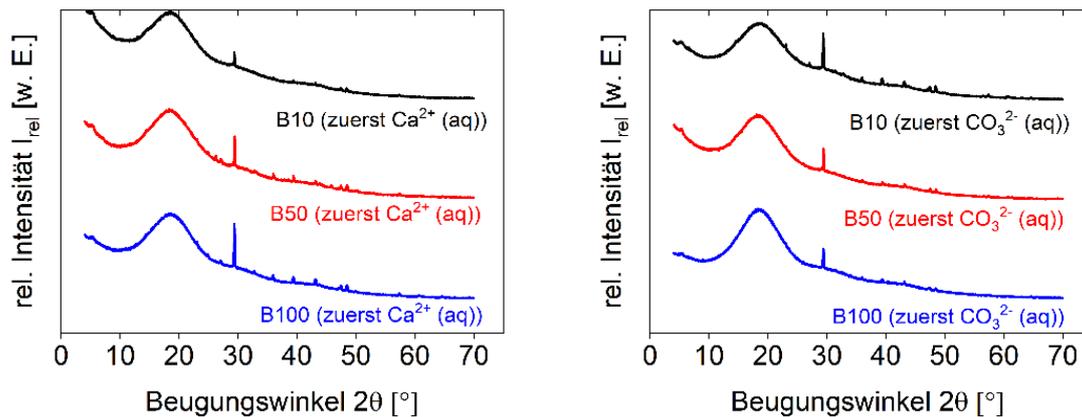
Mittels Raman-Spektroskopie konnten je nach Position unterschiedliche Spektren aufgenommen werden. Dies spiegelt folglich die makroskopischen und mikroskopischen Beobachtungen wider. In der nachfolgenden Abbildung sind zwei unterschiedliche Spektren der Probe B100 gemessen an zwei Punkten gezeigt.



**Abbildung 4.2. 22:** Repräsentative positionsabhängige Ramanspektren der Hybridmaterialien mineralisiert mit  $\text{CaCl}_2$ -Lsg. und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lsg. am Beispiel von B100. Oben – Raman-Spektren an zwei Punkten; Unten links – Bestimmung des Punktes mit  $x = 13$  und  $y = 2$  bei  $1090 \text{ cm}^{-1}$ ; Unten rechts - Bestimmung des Punktes mit  $x = 50$  und  $y = 27$  bei  $1048 \text{ cm}^{-1}$ .

Ein Vergleich dieser zwei Spektren mit dem Spektrum des reinen Hydrogels bestätigt die Vermutung, dass es sich beim Spektrum in Punkt (27, 50) um das Netzwerk handelt. Im anderen Spektrum des Punktes (2, 13) sind die Banden bei  $1090 \text{ cm}^{-1}$ ,  $156 \text{ cm}^{-1}$ ,  $284 \text{ cm}^{-1}$ ,  $717 \text{ cm}^{-1}$  und  $1440 \text{ cm}^{-1}$  den für  $\text{CO}_3^{2-}$  Ionen typischen Schwingungen zuzuordnen. Eine klare Zuordnung zum Polymorph ist aufgrund von Überlagerungen nicht uneingeschränkt möglich, jedoch deuten diese auf Calcit hin.<sup>236,237</sup> Banden bei  $1048 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1758 \text{ cm}^{-1}$ ,  $2934$  und  $2976 \text{ cm}^{-1}$  sind hypothetisch bereits gering ausgeprägte Banden der Netzwerkschwingungen.

Auch in diesem Fall sollen Diffraktogramme mittels XRD aufgenommen die Analytik ergänzen.



**Abbildung 4.2. 23:** Diffraktogramme der Hybridmaterialien mineralisiert mit CaCl<sub>2</sub>-Lsg. und Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lsg.. Links-zuerst die Ca<sup>2+</sup>-Lsg.; Rechts: zuerst CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>-Lsg..

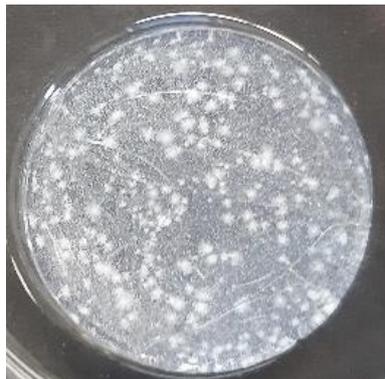
Wird zuerst die Ca<sup>2+</sup> enthaltene Lösung verwendet, können zwei grundlegende Diffraktogramme erhalten werden (Abbildung 4.2. 23 links). Beim B10 sind zunächst sieben Reflexe erkennbar, wohingegen beim B50 und B100 wesentlich mehr Reflexe zu finden sind. Alle Reflexe im Diffraktogramm des B10s bei 29,4° (104), 35,9° (110), 39,4° (113), 43,1° (202), 47,1° (024), 47,5° (018) und 57,4° (1010) können Calcit (ICDD 98-015-8257) zugeordnet werden. Im Diffraktogramm des B50s werden diese Reflexe des Calcits noch durch einen zusätzlichen Reflex bei 23,1° (012) vervollständigt. Zusätzlich sind Reflexe des Aragonits (ICDD 98-016-98-93) bei 26,2° (111); 27,2° (021), 32,8° (121), 33,2° (012), 36,1° (200), 45,8° (221), 48,5° (041) und 52,5° (141) detektiert worden. Komplettiert wird das Diffraktogramm durch Reflexe des Vaterits (ICDD 98-002-7827) bei 24,9° (100), 27,2° (101), 32,8° (102), 43,9° (widersprüchliche Angaben in der Literatur) und 50,2° (widersprüchliche Angaben in der Literatur)<sup>8</sup>. Somit konnten alle drei Polymorphe des Calciumcarbonats im B50 gefunden werden. Im B100 fehlen lediglich die Reflexe des Aragonits. Zusammenfassend kann an dieser Stelle gesagt werden, dass ein hoher Anteil des Vernetzers die Ausbildung einer polymorphen Phase (hier: Calcit) begünstigt. Hingegen ist beim B50 keine Vorzugsphase zu erkennen, obwohl das Aragonit hier als einziges auftritt. B100 scheint die Ausbildung von Aragonit zu verhindern bzw. zu reduzieren. Über die Kristallwege erfolgt die Phasenumwandlung von Vaterit über Aragonit zu Calcit als stabilste Form (vgl. Kapitel 2.1.2). Somit ist beim B10 die Phasenumwandlung abgeschlossen und bei allen anderen sind die Zwischenformen vorhanden. Dies spricht dafür, dass das B10 entweder die Phasenumwandlung akzeleriert oder die beiden anderen retardiert. Das B10 bietet mehr Raum für Diffusion und Kristallbildungen, weshalb eine Akzeleration wahrscheinlicher ist. Zudem könnte das engmaschigere Netzwerk des B50 und B100s die Kristallflächen durch Komplexierung

<sup>8</sup> Anmerkung: Für Vaterit sind die Millerschen Indizes in der Literatur uneindeutig. Die Lage der Reflexe kann aber eindeutig zugeordnet werden.

stabilisieren. Bemerkenswert ist lediglich die Messung von Vaterit und Calcit im B100 ohne Aragonit. Das Netzwerk scheint hier vor allem das Vaterit stabilisieren zu können.

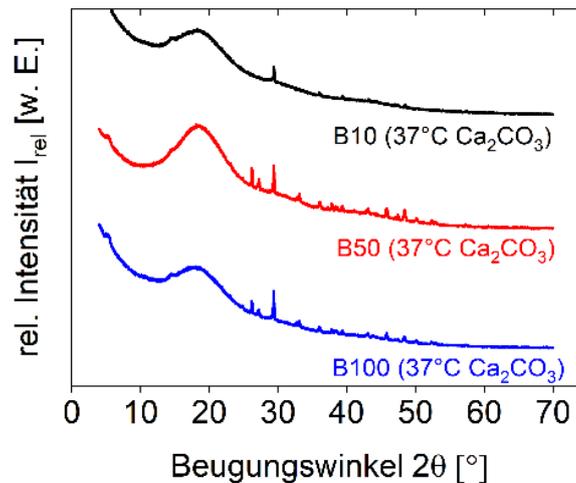
Wird zuerst die  $\text{CO}_3^{2-}$  enthaltene Lösung verwendet (Abbildung 4.2. 23 rechts), ergibt sich ein gegenläufiges Bild. So können im Diffraktogramm des B10s alle drei Polymorphe anhand der zuvor beschriebenen Reflexe zugeordnet werden, wohingegen im Diffraktogramm von B50 und B100 ausschließlich Calcit-Reflexe zu finden sind. Aufgrund eines schlechten Signal-Rausch-Verhältnisses ist jedoch nicht eindeutig auszuschließen, dass nicht auch andere Reflexe und damit Polymorphe vorhanden sind. Dies widerspricht zunächst der eben aufgeführten Erklärung. Jedoch gelangen hier durch attraktive WW. die deutlich größeren  $\text{CO}_3^{2-}$  Ionen in das Gelinnere. Sowohl die Menge als auch die Eindringtiefe ist abhängig von der Maschenweite, weshalb im großmaschigeren B10 eine Anreicherung besser erfolgen müsste. Das kleinere  $\text{Ca}^{2+}$  Ion gelangt schneller ins Gelinnere, weshalb die Mineralisation initiiert werden kann. Im engmaschigeren B50 und B100 ist die Diffusion trotz attraktiver WW. eingeschränkt. Folglich ist die Konzentration an Ionen im B10 höher als im B50 oder B100. Im B50 und B100 werden diese schneller für die Mineralisation verbraucht und das Calcit durch Phasenumwandlung gebildet. Im B10 hingegen ist es möglich, dass immer neue Nukleationskeime entstehen, weshalb auch die instabilen Polymorphen zu finden sind.

Eine Variation der Parameter in Bezug auf Konzentration oder Temperatur zeigte, dass analoge Hybridmaterialien erhalten werden konnten. Bei erhöhter Temperatur während der Mineralisation konnten jedoch deutlich größere farblose flockenartige Partikel im Gelinneren und an der Geloberfläche beobachtet werden. Zudem ist eine Vielzahl kleiner Partikel innerhalb des gesamten Materials homogen verteilt (Abbildung 4.2. 24).



**Abbildung 4.2. 24:** Eigenes Foto vom 10.10.2019 des Hydrogels B10 mineralisiert mit  $\text{CaCl}_2$ -Lsg. und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lsg. bei  $37^\circ\text{C}$ .

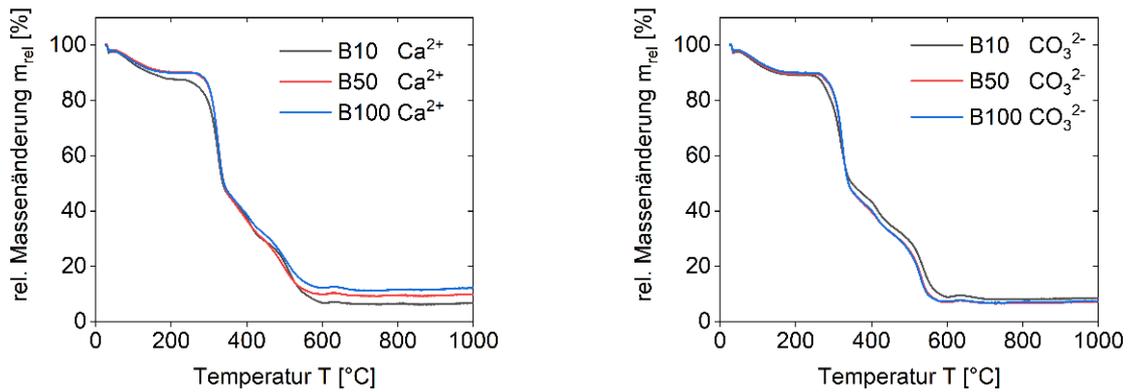
Auch in diesem Fall wurden unterschiedliche Diffraktogramme aufgenommen (Abbildung 4.2. 25).



**Abbildung 4.2. 25:** Diffraktogramme der Hybridmaterialien mineralisiert mit  $\text{CaCl}_2$ -Lsg. und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lsg. bei erhöhter Temperatur.

Wie schon zuvor beschrieben sind weniger Reflexe im Diffraktogramm des B10s als in dem des B50s bzw. B100s enthalten. Auch hier kann ein Großteil der Reflexe für das B10 dem des Calcits, namentlich  $29,4^\circ$  (104),  $35,9^\circ$  (110),  $39,4^\circ$  (113),  $43,1^\circ$  (202),  $47,1^\circ$  (024),  $47,5^\circ$  (018) und  $57,4^\circ$  (1010) (ICDD 98-015-8257), zugeordnet werden. Die Zuordnung zweier zusätzlicher Reflexe bei  $14,6^\circ$  und  $18,2^\circ$  scheiterte aufgrund zu weniger Anhaltspunkte. In den meisten Fällen werden Reflexe unterhalb  $20^\circ$  seltener ausgewertet. Als mögliches Nebenprodukt kann  $\text{NaCl}$  ausgeschlossen werden, da keine Reflexe des  $\text{NaCl}$ s gefunden werden konnten. Die Reflexlage im Diffraktogramm des B50s und B100s unterscheidet sich nicht. Lediglich in der Intensität gibt es Abweichungen. Grundsätzlich können auch hier neben den genannten Calcit-Reflexen, die Reflexe des Vaterits und Aragonits beobachtet werden. Wie schon zuvor beschrieben wird das Reflexmuster des Calcits durch einen zusätzlichen Reflex bei  $23,1^\circ$  (012) ergänzt. Alle weiteren Reflexe wurden bereits anhand ICDD 98-016-98-93 und ICDD 98-002-7827 aufgeführt und sind somit analog zu betrachten.

Durch eine quantitative Analyse mittels TGA (Abbildung 4.2. 26) kann gezeigt werden, dass sowohl die Reihenfolge der Mineralisationslösungen als auch die Temperatur Einfluss auf den anorg. Anteil im Hybridmaterial aufweisen. Wurde das Hydrogel als erstes in 0,1 M Calciumchloridlösung gelegt, ist eine ähnliche Abhängigkeit, wie bereits für das Calciumphosphat dokumentiert, zu erkennen. Der Anteil im B10 ist mit 7 % geringer als beim B50 (10 %) und B100 (12 %). Auch hier ist zu beobachten, dass der anorg. Anteil geringer ist, wenn zuerst die anionische Komponente (hier: Carbonat) zugesetzt wird. Zudem ist der Unterschied zwischen den Geltypen weniger ausgeprägt. Alle Proben liegen im Bereich von 7 % (B100) und 9 % (B10).



**Abbildung 4.2. 26:** TGA Kurven der Hybridmaterialien mit Calciumcarbonat: Links – erst  $\text{CaCl}_2$  –Lsg. 0,1 M; Rechts – zuerst  $\text{NaCO}_3$  0,1 M.

Die Ergebnisse der Berechnung der anorg. Komponente im Hybridmaterial ist nachfolgend noch einmal zusammengefasst.

**Tabelle 4.2. 3:** Quantitative Analytik mittels TGA. Bestimmung der Restmasse in Abhängigkeit vom Mineralisationsparameter Ionenreihenfolge, Konzentration oder Temperatur.

Mineralisations- bedingung	Restmasse im Xerogel			Anorg. Anteil im		
	[%]			Xerogel [%]		
	B10	B50	B100	B10	B50	B100
zuerst $\text{Ca}^{2+}$	7	10	12	13	18	21
zuerst $\text{CO}_3^{2-}$	9	8	7	16	14	13
c = 0,5 mol/L	21	22	25	38	39	45
T = 37°C	3	9	12	5	16	21

Der  $\text{CaCO}_3$ -Anteil im Xerogel ist damit deutlich höher als der des Calciumphosphats. Zunächst ist dies damit zu begründen, dass im Falle des Carbonats auch eine Mineralisation in der Hydrogelmitte zu erkennen ist. Das CaP mineralisierte nur an der Oberfläche. Dies lässt sich vor allem durch die Molekülgröße der anorg. Komponente und die etwas zeitverzögerte Mineralisierung erklären.

Im Anhang B sind Daten aus der Kooperation mit Timothy Douglas aufgeführt. Hier erfolgt nur eine Zusammenfassung der Ergebnisse und Diskussion. Das Hybridmaterial wurde mittels alternierendem Eintauchverfahren unterstützt durch Ultraschallbehandlung synthetisiert. Dabei wurde zusätzlich der Einfluss einer dreimaligen Behandlung mit den Mineralisationslösungen und dem Ultraschall analysiert. Mittels TGA konnten eine Restmasse von ca. 30 % bestimmt werden. Dabei ist kein signifikanter Unterschied zwischen den Mineralisationszyklen erkennbar. Mittels REM wurde die Morphologie und Größenverteilung

nach jeder Behandlung dokumentiert. So konnten annähernd sphärische Partikel mit  $0,36 \pm 0,06 \mu\text{m}$  während des ersten Mineralisationszyklus beschrieben werden. Mit den folgenden Behandlungen nahm der Durchmesser der Partikel bis auf  $1,8 \pm 0,5 \mu\text{m}$  zu. Die gesamte Größenverteilung wirkt insgesamt inhomogener mit zunehmend durchlaufenden Zyklen. Außerdem entstanden ab der dritten Behandlung auch würfelförmige Partikel. Sphärische Partikel deuten auf Vaterit und würfelförmige Strukturen auf Calcit hin.

Dies wurde mittels IR-Spektroskopie und XRD überprüft. Wie auch schon zuvor beschrieben, ist die Auswertung der Spektren aufgrund der Schwingungen des Netzwerks erschwert. Jedoch konnte bei  $881 \text{ cm}^{-1}$  eine zusätzliche Bande detektiert werden. Diese weist auf Carbonat hin. Außerdem treten vermehrt Banden eines Calciumsulfates auf, welche sich jedoch mit den Banden des Hydrogels überlagern.<sup>238</sup> Diese deuten womöglich auf die Komplexierung der Calciumionen durch den Schwefel im Betainnetzwerk hin.

Im Diffraktogramm nimmt die Intensität der Reflexe mit den durchlaufenden Zyklen zu. Ansonsten konnten charakteristische Reflexe des Calcits und des Vaterits detektiert werden. Zusätzlich treten Reflexe bei ca.  $31^\circ$  und  $46^\circ$  auf, welche dem NaCl zugeordnet wurden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sowohl die ultraschallunterstützte Mineralisation als auch das alternierende Eintauchverfahren vergleichbare Werte liefert. Dies ist insofern erwähnenswert, da  $1 \text{ mol/L}$  Mineralisationslösungen verwendet wurden. Zudem scheint auch eine Ultraschall-Behandlung keine signifikanten Auswirkungen auf die Morphologie und Modifikation aufzuweisen. Ergänzende Analytik der Mineralisation aus der Gasphase wurden nicht weiter berücksichtigt, da diese Methode gemäß der vorangegangenen Arbeit<sup>211</sup> zu harsche Bedingungen für das Hydrogel darstellt.

## 4.3 Wechselwirkungen vom Material mit biologischen Systemen

Die Wechselwirkungen der zuvor charakterisierten Materialien sollten mit verschiedenen Zelltypen analysiert werden. In Vorbetrachtungen wurde der Einfluss von verschiedenen Zellmedien auf die Struktur und Beschaffenheit der Gele aufgeführt. Dazu wurden dynamisch mechanische Analysen durchgeführt und die Netzwerkstruktur mittels lichtmikroskopischer Aufnahmen abgebildet. Anschließend wurden vorrangig einzellige Organismen, wie Amöben (*Dictyostelium discoideum*), Bakterien (*Escherichia coli* und *Staphylococcus Aureus*) und spezialisierte Stammzellen (*Fibroblasten*, *Saos2-Zellen* und *Chondrozyten*) zur ersten Einschätzung der Zytotoxizität verwendet. Die Testreihen der Wechselwirkung mit Amöben wurden eigenständig durchgeführt. Alle weiteren Datenreihen wurden innerhalb von Kooperationen und Bachelorarbeiten erarbeitet.

### 4.3.1 Vorbetrachtungen zur Wechselwirkung der Gele mit Zellmedien

Für die Einschätzung der Zytotoxizität wurden verschiedene Zelltypen auf die Hydrogele gegeben und anschließend deren Vitalität analysiert. Um mögliche Fremdeinwirkungen durch die Umgebung minimieren zu können, mussten die Materialien sterilisiert werden. Dies geschah in diesem Fall mit 70 %-iger Ethanollösung. Außerdem benötigen die Zellen verschiedene Umgebungsbedingungen, wie z. B. Salze, pH-Wert und Nahrung, um den natürlichen Zustand zu imitieren. Dies wurde durch die Verwendung verschiedener Zellmedien realisiert. Da bereits in den vorherigen Kapiteln die Wechselwirkung von verschiedenen Salzlösungen auf die Gelbeschaffenheit beschrieben wurde, ist ein Einfluss dieser komplexeren Lösungen auf das Material wahrscheinlich.

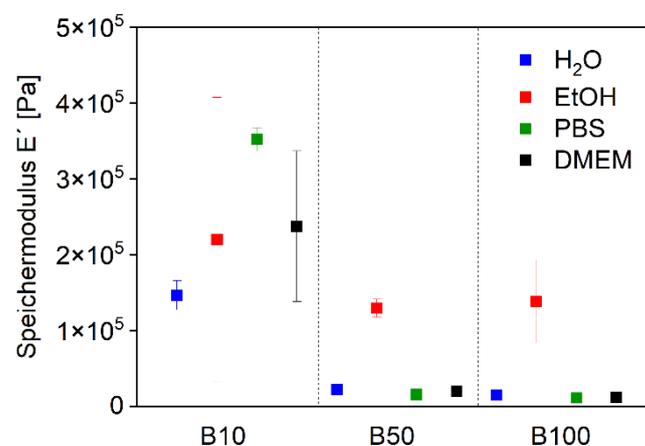
Zur makroskopischen Betrachtung wurde daher der Durchmesser in verschiedenen Medien dokumentiert (Tabelle 4.3. 1). Dazu wurden die im Gleichgewichtsquellzustand befindlichen Gele über Nacht in die entsprechenden Lösungen gelegt. In einer 70 %igen Ethanollösung (EtOH) kam es zum Schrumpfen der Gele auf etwa 2,3 cm. In phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) schrumpfte das B10 um ca. 6 mm, wohingegen B50 und B100 jeweils um ca. 6 mm quollen. In Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) kann ein ähnlicher Trend beobachtet werden, wie bereits in der EtOH-Lösung beschrieben wurde. Lediglich das B100 folgte diesem Trend nicht und nahm im Durchmesser um 5 mm zu.

**Tabelle 4.3. 1:** Durchmesser der Geltypen B10, B50 und B100 in unterschiedlichen Medien.

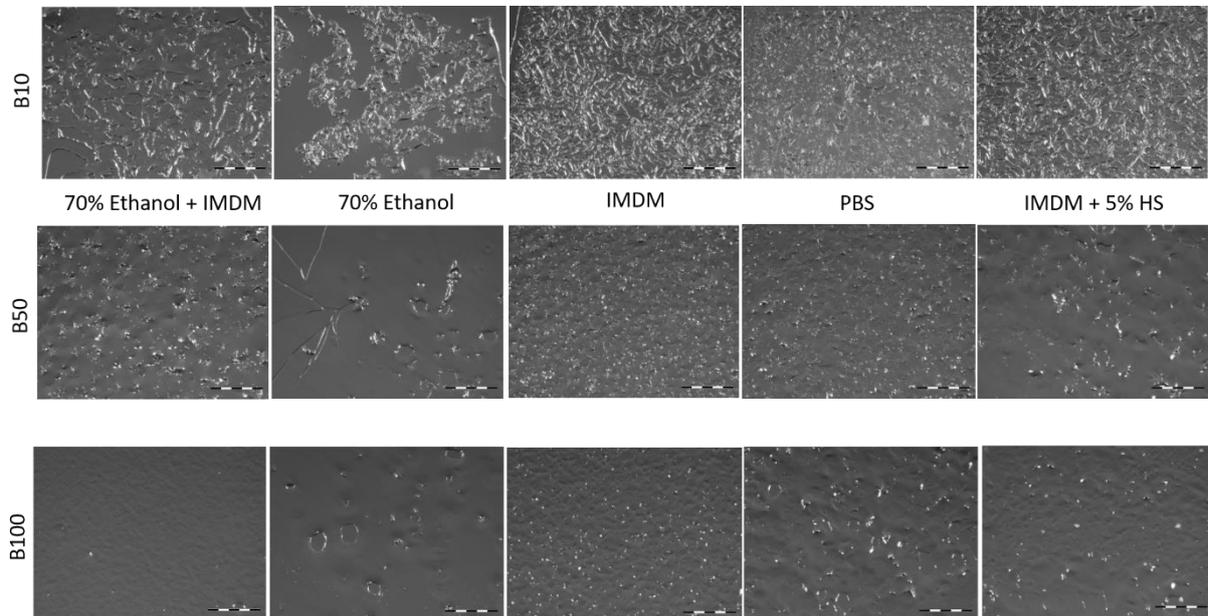
Bezeichnung	Durchmesser in Reinstwasser	Durchmesser in Ethanol- Lösung	Durchmesser in phosphatgepufferter Salzlösung	Durchmesser in Dulbecco's Modified Eagle's Medium
	$\varnothing_M$ [cm]	$\varnothing_{\text{EtOH}(70\%)}$ [cm]	$\varnothing_{\text{PBS}}$ [cm]	$\varnothing_{\text{DMEM}}$ [cm]
B10	3,4 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,8 ± 0,1	2,4 ± 0,1
B50	2,7 ± 0,1	2,3 ± 0,1	3,3 ± 0,1	2,3 ± 0,1
B100	2,7 ± 0,1	2,3 ± 0,1	3,3 ± 0,1	3,2 ± 0,1

Eine Erklärung ist wiederum in den Eigenschaften der zwitterionischen Struktur zu finden. In Ethanol überwiegen die intramolekularen Wechselwirkungen und das Netzwerk kollabiert. In den beiden getesteten Zellmedien sind eine Vielzahl von Ionen enthalten, welche diese Wechselwirkungen kompensieren können, weshalb das Hydrogel quillt. B10 ist hier wieder eine Ausnahme. Hypothetisch ist hier die geringe Konzentration an Ionen nicht ausreichend, um eine vollständige Ladungsneutralität zu erreichen. Im DMEM sind vorrangig Aminosäuren und Vitamine enthalten, welche nicht dem Ladungsausgleich dienen. Auch hier ist eher ein Schrumpf die Folge.

Auch die mechanischen Eigenschaften unterliegen Schwankungen je nach verwendetem Medium. Diese wurden mittels DMA dokumentiert. Dabei zeigt es sich, dass die Verschiebung des Speichermoduls erfolgt. Dabei zeigt das Ethanol den größten Einfluss auf den Speichermodulus (Abbildung 4.3. 1).

**Abbildung 4.3. 1:** Auftragung des Speichermoduls  $E'$  der Geltypen B10, B50 und B100 in verschiedenen Medien. Blau – Wasser; Rot – 70% EtOH; Grün – PBS; Schwarz – DMEM.

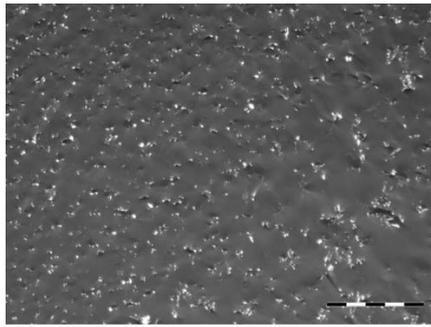
Außerdem wurden ergänzende Untersuchungen an der BTU Cottbus-Senftenberg in der Gruppe von Prof. Anderer durchgeführt. Dabei zeigte sich eine Veränderung der Oberflächenstruktur je nach verwendetem Medium. In der nachfolgenden Abbildung sind stereomikroskopische Aufnahmen gezeigt, welche die Veränderung der Oberflächenstruktur visualisieren.



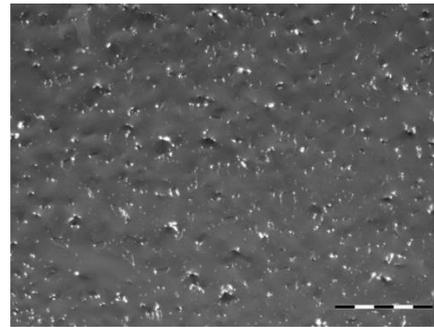
**Abbildung 4.3. 2:** Stereomikroskopische Aufnahmen der Geltypen B10, B50 und B100 in verschiedenen Medien. Maßstab: keine Angaben vom Kooperationspartner erhalten.

Dabei bestätigt sich, dass das B10 empfindlicher gegenüber einem Mediumwechsel ist. Hier ist eine deutlich ausgeprägte Rissbildung in der Oberfläche zu beobachten. Im Vergleich dazu scheinen B50 und B100 toleranter gegenüber verschiedenen Zusammensetzungen zu sein. Besonders beim B100 tritt die Rissbildung weniger auf.

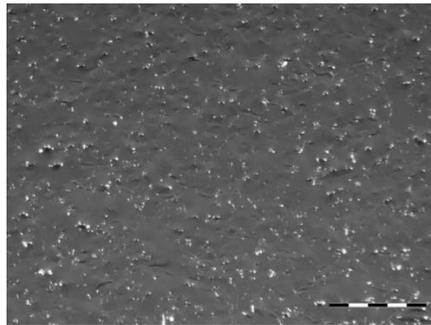
Um die Auswirkung des Mediums auch in der gesamten Geldicke bestimmen zu können, wurden serielle Schnitte von 16  $\mu\text{m}$  angefertigt und mittels Stereomikroskopie analysiert. Hier zeigte sich, dass lediglich die ersten Schnitte inhomogen sind. Auffallend ist, dass dies nur von einer Gelseite zu beobachten war. Gezeigt ist dies an den Aufnahmen in Abbildung 4.3. 3 der Gelreihe B50 in PBS.



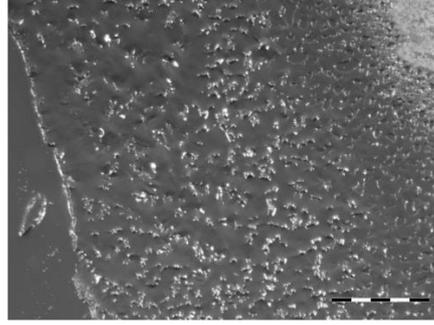
Schnitt 1 - unten



Schnitt 8



Schnitt 4



Schnitt 13 - oben

**Abbildung 4.3. 3:** Serielle Schnitte (16  $\mu\text{m}$ ) von B50 in PBS. Maßstab: 500  $\mu\text{m}$ .

Allgemein kann jedoch gesagt werden, dass die Behandlung mit EtOH-Lösung zur Sterilisation kein praktikables Mittel zu sein scheint, da eine Veränderung des Gels stattfindet. Daher soll im Folgenden vor allem die Sterilisation unter UV-Licht verwendet werden.

Die Abhängigkeit der Oberflächenstruktur vom umgebenen Medium lässt sich voranging durch die unterschiedliche Vernetzerdichte erklären. Wie in Kapitel 4.1 beschrieben ist das Netzwerk rigider je höher der Anteil an Vernetzer. Analoge Beschreibungen der Wechselwirkung vom Sulfobetain-Grundgerüst mit Ionen der Salzlösungen (s. Kapitel 4.1) können hier fortgesetzt werden. Die inter- und intramolekularen Wechselwirkungen der Funktionalitäten des Sulfobetain bewirken dabei einen Ausgleich der effektiven Ladung.

#### **4.3.2 Vorbetrachtungen zum Färbeverhalten der Hydrogele<sup>9</sup>**

Neben der Vorbetrachtung des Einflusses verschiedener Zellmedien auf das Hydrogel ist auch die Vorbetrachtung zum Färbeverhalten notwendig. Eine Vielzahl der bildgebenden Analytik im biologischen Bereich erfolgt ausschließlich über Fluorophore oder andere Farbstoffe.

An dieser Stelle sollen lediglich die Ergebnisse zusammengefasst werden. Details sind der Bachelorarbeit von Madleen S. Rietscher zu entnehmen.<sup>239</sup> In folgenden Kapiteln werden jedoch einige Methoden aufgegriffen und weiter erläutert. Grundsätzlich wurden für diese

---

<sup>9</sup> Detail zur experimentellen Durchführung sind er Bachelorarbeit Madleen Sabine Rietscher zu entnehmen. Die Auswertung erfolgte durch die Autorin dieser Dissertation.

Untersuchung 9 µm Gefrierschnitte des B50s verwendet. Für den Einfluss von histologischen Färbungen wurden die Färbung der Alkalischen Phosphatase, „Sirius Red“, „Fast Green“ und „Alcianblau“ verwendet. Lediglich die zuerst genannte Färbung führte zu keiner makroskopischen Veränderung der Schnitte. In den anderen Fällen konnte eine Verfärbung nach rot („Sirius Red“) bzw. dunkelgrün („Fast Green“) oder sogar eine komplette Stabilitätsveränderung auf den verwendeten Objektträgern („Alcianblau“) beobachtet werden. Erklärt werden kann dies zunächst über die Ladung der Farbstoffe. Beim „Sirius Red“ handelt es sich um einen negativ geladenen Azofarbstoff und beim „Fast Green“ um einen negativ geladenen Triphenylmethanfarbstoff. Aufgrund der positiven Ladung des Vernetzers ist eine attraktive Wechselwirkung dieser Farbstoffe mit der Matrix wahrscheinlich, weshalb sich das Hydrogel verfärbt. Beim Alcianblau, einem positiv geladenen Cu-Komplex, führte jedoch schon der erste Waschschrift mit Essigsäure zur Veränderung. Dies kann über den niedrigen pH-Wert und damit eine saure Esterhydrolyse erklärt werden. Die eigentliche Färbung wurde nicht analysiert. Anhand der Ladung ist aber von einer geringeren Farbaufnahme auszugehen. Als nächstes wurde die Färbung von Kossa zur Bestimmung des Calciumgehaltes analysiert. Hier färbt sich der Schnitt schwarz. Da diese Färbung zunächst auf der Bindung von Ag<sup>+</sup>-Ionen an Phosphationen beruht, ist an dieser Stelle nicht auszuschließen, dass es zu einer Verwechslung der Hydrogelproben gekommen ist und fälschlicherweise die mineralisierten Hydrogele verwendet wurden. Eine alternative Erklärung kann zu diesem Zeitpunkt nicht gefunden werden.

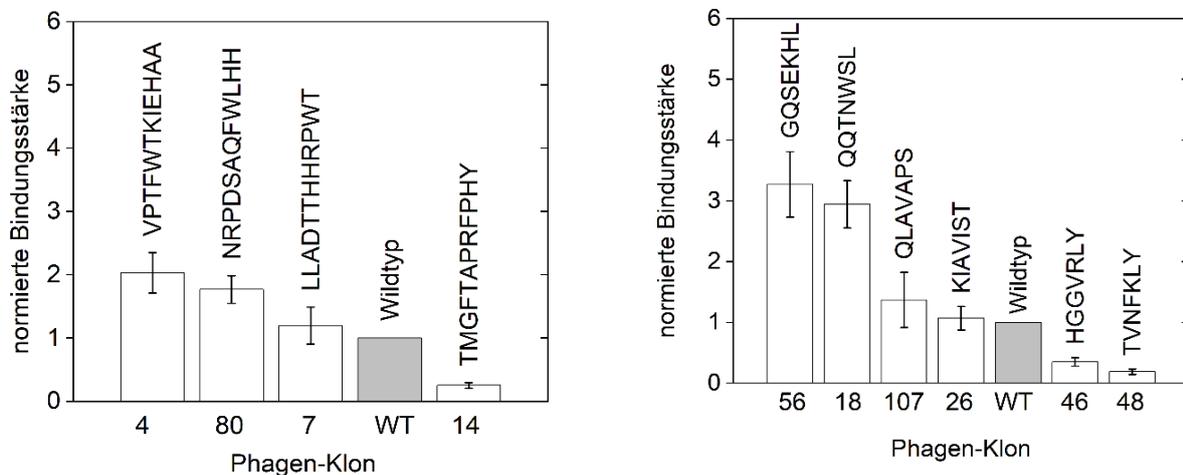
Exemplarisch für verschiedene Fluoreszenzfarbstoffe wurde Alexa Fluor™ 488-konjugiertes Phalloidin und Alexa Fluor™ 594-konjugiertes Phalloidin verwendet. Diese zeigten keine unspezifische Bindung an das Netzwerk. Da es sich beim Phalloidin um ein neutrales Cyclopeptid mit einem gebundenen Farbstoff handelt, kann dieser am geladenen Netzwerk nicht wechselwirken.

Als letztes wurden verschiedene Immunfluoreszenzfärbungen, namentlich von Kollagen I, Kollagen II, Proteglykan und Sox9, durchgeführt. Lediglich zur Färbung von Proteglykan wurde eine unspezifische Färbung dokumentiert. Zusammenfassend diente diese Vorbetrachtung der Evaluierung der zu verwendenden Methoden.

### 4.3.3 Peptidadsorption auf dem Hydrogel B10<sup>10</sup>

Die Wechselwirkungen von transplantierten Materialien mit dem biologischen System ist in der Literatur beschrieben.<sup>240,241</sup> Entscheidend ist in den ersten Minuten bis Stunden die Adsorption von Proteinen und damit die Bildung eines Biofilms. Diese beeinträchtigen weitere Wechselwirkungen mit verschiedensten Zelltypen. Daher sollen nachfolgend die Wechselwirkungen von Peptidsequenzen mit der Hydrogeloberfläche beschrieben werden.

Mittels M13KE, einem Derivat von M13 Bakteriophagen, wurden Peptidsequenzen exprimiert und die Bindungsstärke analysiert. Dazu wurden mittels Phage-Display vier 12-mer und sechs 7-mer Peptidsequenzen ausgewählt. Über Biopanning konnten dann die Bindungsstärken ermittelt werden. In Abbildung 4.3. 4 ist die auf den Wildtyp normierte Bindungsstärke gezeigt.



**Abbildung 4.3. 4:** Auf den Phagen Wildtyp (WT) normierte Bindungsstärke der 12-mer Peptide (links) und 7-mer (rechts) zur Hydrogeloberfläche von B10 mittels Bindungsassay. Detaillierte Beschreibung der Peptidsequenzen sind dem Anhang C zu entnehmen.

Dabei zeigte sich, dass jeweils zwei 12-mer und zwei 7-mer Peptide bis zu viermal höhere Bindungsstärke aufweisen als der Wildtyp.

Zur Erklärung kann zunächst das Mengendiagramm nach Venn bezüglich Zusammenhänge der physikalisch-chemischen Eigenschaften der Aminosäuren herangezogen werden.<sup>242</sup> Grundlegende Parameter wären hier vorrangig die Größe, Polarität und Hydrophobizität. Demzufolge enthalten die Sequenzen zwar die als besonders „winzig“ geltenden AS Alanin, Glycin oder Serin, jedoch sind diese auch in den deutlich schwächer bindenden Sequenzen enthalten. Des Weiteren sind aromatische AS wie Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan oder Histidin enthalten, welche die Sequenz sterisch anspruchsvoller machen. Zur Abschätzung sei an dieser Stelle die größte AS Tryptophan

<sup>10</sup> Die Datenaufnahme des Phage-Displays und der Analyse der Bindungsstärke erfolgte in der Bachelorarbeit von David Petracek in der Gruppe von Dr. Dirk Rothenstein an der Universität Stuttgart.

genannt, welche trotz des sterisch anspruchsvolleren Indolrings nur wenige Nanometer groß ist. Potentiell wäre also eine Diffusion der Peptide in die Netzwerkstruktur des Hydrogels möglich, da alle getesteten Sequenzen in das Netzwerk passen. Allein die Größe der Peptidsequenz kann aber folglich nicht als Ursache für eine stärkere Bindung herangezogen werden, da Bindungsunterschiede detektiert wurden. Diese Begründung trifft im Übrigen auch auf die M13 Phage zu. Trotz einem Durchmesser von ca. 6 nm und einer ungefähren Länge von 880 nm kann die Größe nicht als alleinige Ursache angesehen werden.<sup>243</sup>

Auch die elektrische Ladung der AS könnte die Bindungsstärke beeinflussen. Wie bereits in den vorangegangenen Kapiteln beschrieben, ist das Netzwerk eher positiv geladen. Daraus folgt eine repulsive Wechselwirkung mit positiv geladenen AS wie Histidin, Lysin oder Arginin. Diese sind allerdings auch in den stärker bindenden Sequenzen enthalten.

Sowohl die Polarität als auch die Hydrophobizität können die Extrema erklären. Dagegen können allgemeine Tendenzen nicht beschrieben werden. Beispielsweise befinden sich in den gut bindenden 7-mer Peptiden GQSEKHL und QQTNWSL viele polare AS. Lediglich Glycin und Leucin sind unpolar. In den weiteren Sequenzen sind z.T. nur wenige polare Gruppen enthalten. In der am schlechtesten bindenden Sequenz TVNFKLY wiederum sind eine Mehrzahl an polaren Gruppen enthalten. Ähnlich verhält sich die Betrachtung der Hydrophobizität. Daraus ergibt sich, dass keiner der aufgeführten Parameter als isolierte Ursache für eine verstärkt auftretende Bindung angesehen werden kann.

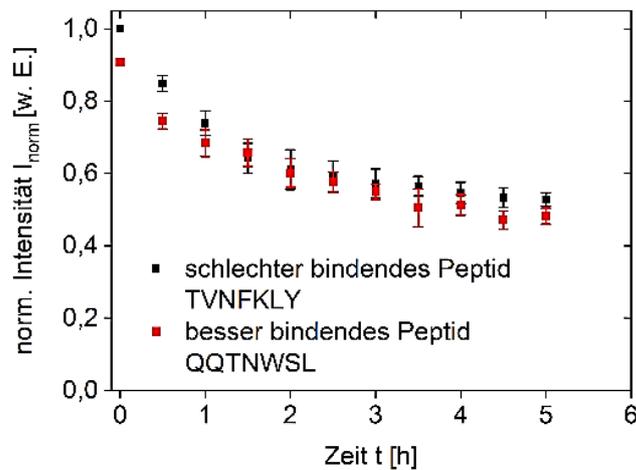
Ergänzende Analytik sind der Publikation Ihlenburg *et al.* zu entnehmen.<sup>244</sup> Zusammenfassend kann über Peptid Modelling mittels AlphaFold2 die Struktur der Peptide und damit eine Begründung für die selektive Bindung weiterführend analysiert werden.<sup>11</sup> Daraus wird ersichtlich, dass vor allem das elektrostatische Potential der Peptidoberfläche als hypothetische Ursache formuliert werden kann. Gut bindene Sequenzen besitzen eine Kombination aus positiv und negativ geladener Region. Ist die positiv geladene Region zu klein, ist die Bindung schwächer. Auch die Vergrößerung einer neutralen Region schränkt die Bindungsstärke weiter ein. Unterstützt wird dies durch direkte elektrostatische Wechselwirkung. Die dominierenden quartären Ammoniumgruppen des Vernetzers wechselwirken daher stärker mit den Peptidsequenzen mit negativem elektrostatischen Potential. Begünstigt wird dies auch durch flexible und lange Seitenketten der Peptide.

Um also diese Bindung zwischen AS und Hydrogel besser einschätzen zu können wurden Fluoreszenzmessungen durchgeführt. Dazu wurden die stärker bindende Sequenz QQTNWSL und die weniger bindende Sequenz TVNFKLY mit dem Farbstoff Rhodamin B

---

<sup>11</sup> Das Peptid Modelling wurde durch Paul Schrank und Mehdi D. Davari vorgenommen.

synthetisiert.<sup>12</sup> In Abbildung 4.3. 5 ist die gemessene Intensität der Fluoreszenz in Abhängigkeit von der Zeit gezeigt.



**Abbildung 4.3. 5:** Auftragung der Fluoreszenzintensität gegen die Zeit. Schwarz – Messung mit der schlechter bindenden Peptidsequenz TVNFKLY-Rhodamin – B; Rot – mit der besser bindenden Peptidsequenz QQTNWSL – Rhodamin B.

Daraus wird ersichtlich, dass die Intensität des Fluorophores mit der Zeit abnimmt. Ein Vergleich der Proben lässt nicht signifikante Unterschiede erkennen. Auch nach 24 h ist eine weitere Abnahme der Intensität von ca. 0,2 detektiert worden. Da weder der Verlauf der Kurve noch der Endpunkt nach 24 h signifikante Unterscheidungen zwischen den Proben zulassen, ist diese Methode zur näheren Beschreibung der Wechselwirkung der Peptide mit dem Hydrogel ungeeignet. Hypothetische Ursache könnte die positive Ladung des Farbstoffes sein, welche mit der Sulfonatgruppe des Betains interagieren könnte. Aufgrund der benötigten geringen Konzentration bei Fluoreszenzmessungen, könnte dies trotz dominierender repulsiver WW. mit dem Vernetzer im Netzwerk eine von der Peptidsequenz unabhängige Adsorption ausgelöst haben.

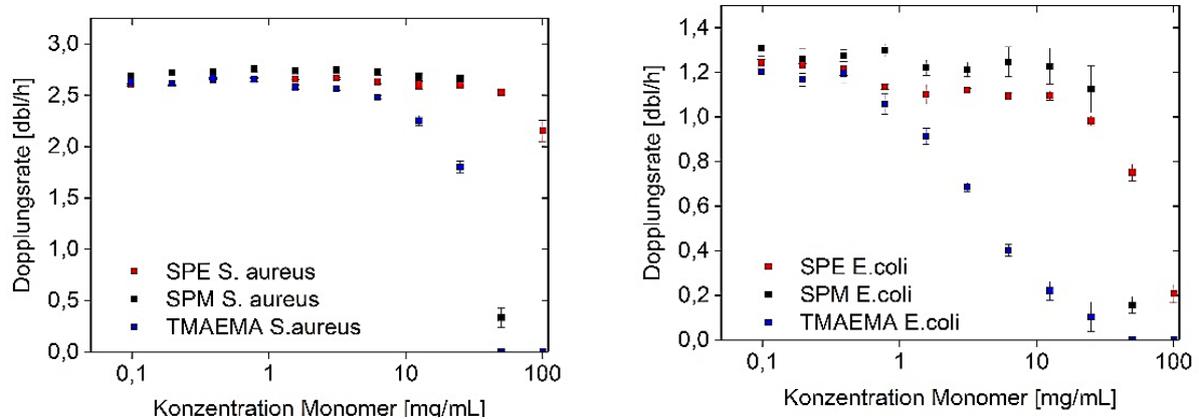
#### 4.3.4 Wechselwirkung mit verschiedenen Bakterien <sup>13</sup>

Um eine mögliche antibakterielle Wirkung der Hydrogele zu testen, wurden zunächst die Monomere in Bezug auf die Dopplungsrate der gramnegativen *Escherichia coli* (*E. coli*) und der grampositiven *Staphylococcus aureus subsp. aureus* (*S. aureus*) quantifiziert. Eine Analyse der Wachstumskurven von *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) war aufgrund eines untypischen Wachstums nicht möglich. In Abbildung 4.3. 6 sind die dazugehörigen Auftragungen der Dopplungsrate in Abhängigkeit der Konzentration vom Monomer gezeigt.

<sup>12</sup> Die Synthese der Peptidsequenzen erfolgte durch Matthias Hartlieb.

<sup>13</sup> Die Datenaufnahme erfolgte in der Arbeitsgruppe von Prof. Arndt durch Dr. Stefan Hoffmann.

Die drei verwendeten Monomere haben ab einer Konzentration von ca. 10 mg/mL einen erkennbaren Einfluss auf die Verdopplungszeit der *S.aureus*. Davor ist die Dopplungsrate bei 2,5 Dopplungen pro Stunde annähernd konstant. Im Gegensatz dazu beeinflussen die Monomere das Wachstum von *E.coli*. Hier zeigte sich, dass ab einer Konzentration von > 1 mg/mL das TMAEMA die Dopplungsrate stark reduzieren konnte. Dies beinhaltet 0,2 Dopplungen pro Stunde bei einer Konzentration von 10 mg/mL. SPE und SPM zeigen ab ca. 50 mg/mL Monomer eine signifikante Wirkung auf das Wachstum und reduzieren auf 0,7 Dopplungen pro Stunde. Bei geringen Konzentrationen ist eine Schwankung um 1,2 Dopplungen pro Stunde zu erkennen.



**Abbildung 4.3. 6:** Auftragung der Dopplungsrate von *S.aureus* (links) und *E. coli* (rechts) und in Abhängigkeit der Monomerkonzentration von SPE, SPM und TMAEMA. Der Einfluss von TMBEMPA/Br konnte nicht näher analysiert werden, da es zu einer konzentrationsabhängigen Extinktion bei 600 nm infolge einer Trübung des Mediums kam.

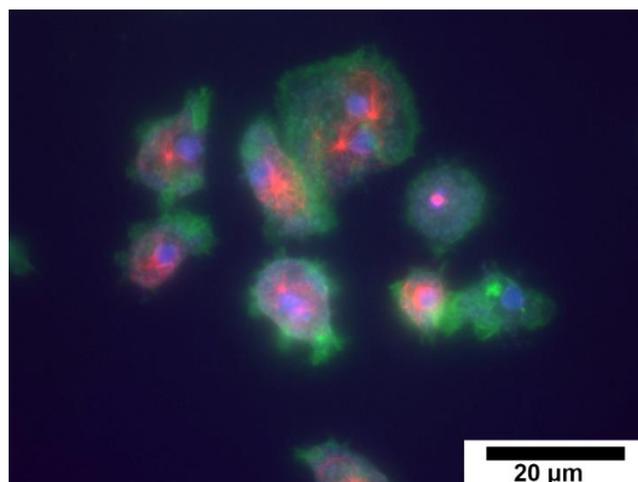
Eine Erklärung ist die Struktur der Bakterien. Gramnegative Bakterien besitzen eine deutlich dünnere Zellwand als grampositive Bakterien, wodurch ein Einfluss schneller zu beobachten ist. Das TMAEMA hat in beiden Fällen einen ausgeprägteren Einfluss als die anderen beiden Monomere. Die positive Ladung des TMAEMAs kann hier als Begründung genannt werden. Negative geladene Lipopolysaccharide, welche in der Membran enthalten sind, ziehen das TMAEMA an.

Daraufhin wurden die *E.coli* Bakterien auf allen Geltypen, welche von einem Agargel umgeben waren, ausgesät. Hier konnte jedoch keine klare Tendenz bezüglich eines veränderten oder gar präferierten Wachstums festgestellt werden, weshalb auf eine tiefergehende Analytik verzichtet wurde. Dies lässt aber die Hypothese zu, dass die effektive Ladung an der Oberfläche nicht ausreichend ist. Vor allem beim T10 hätte sich, begründet auf den vorangegangenen Ergebnissen, ein verändertes Besiedlungsverhalten zeigen sollen.

#### 4.3.5 Analytik der *Dictyostelium discoideum*

Zu Beginn wurden Bewegung und Adhärenz der *Dictyostelium discoideum* an der Geloberfläche nach erfolgter UV-Behandlung dokumentiert. Die vollständige Entwicklung bis zum Fruchtkörper konnte nicht beobachtet werden, da die Hydrogeloberfläche zu stark austrocknete, jedoch konnte unter Phosphatpuffer die Entwicklung bis zum Slug beobachtet werden. Bei der Kontrollprobe kam es innerhalb von 12-16 h zur Slug Bewegung. Diese war nicht auf der Hydrogeloberfläche zu erkennen, jedoch waren Unterschiede zwischen den Vernetzergarden sichtbar. Beim B10 scheinen eine Vielzahl der Einzeller in das Gellinere einzuwandern. Die ausgesendeten Botenstoffe, zumeist ein Glykoprotein, der Pre-Starvation-Faktor, gelangt dann nicht mehr zur nächstgelegenen Zelle. Die Folge ist ein Ausbleiben der Entwicklung. Das andere Extremum ist das B100. Hier vermehren sich die Zellen zunächst, jedoch sind die Zellen deutlich kleiner und kugelförmig. Grund hierfür ist eine Kontamination mit Bakterien, welche zunächst als Nahrungsquelle dienten und das Einsetzen der Entwicklung verhindern. Bei B50 ist weder eine direkte Einwanderung der Zellen in das Gellinere noch eine starke Vermehrung zu beobachten. Daher muss das Ausbleiben der Entwicklungsstadien eine andere Ursache haben. Möglich wäre hier eine gehemmte Beweglichkeit auf der Oberfläche durch die Oberflächenstruktur des Gels oder aber ein Versickern des Botenstoffs im Gel.

Zur bildgebenden Analyse wurden Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen angefertigt. Dies geschah in Anlehnung an das Prozedere aus der vorangegangenen Masterarbeit.<sup>211</sup> In Abbildung 4.3. 7 ist eine beispielhafte Aufnahme gezeigt.

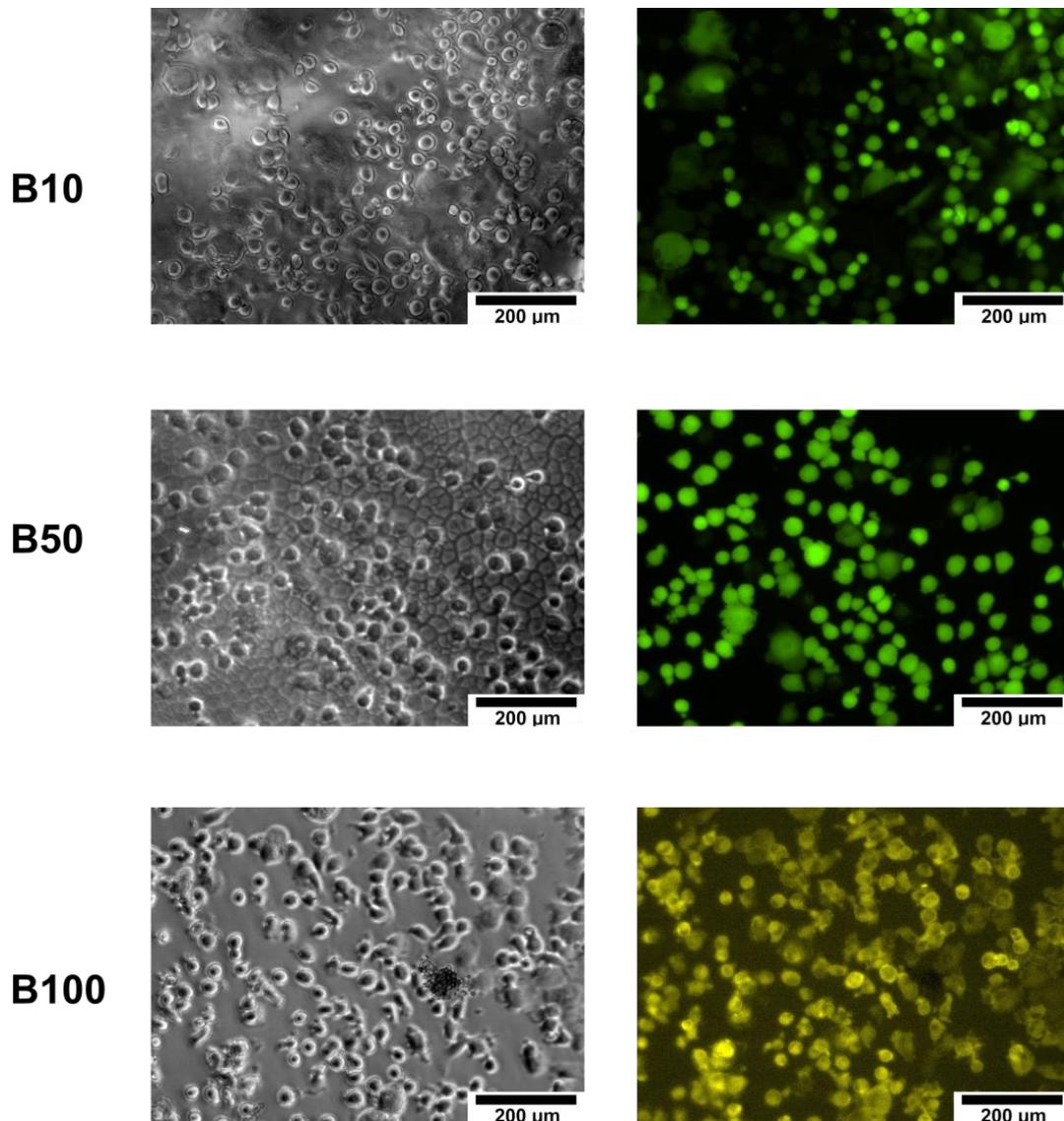


**Abbildung 4.3. 7:** Aufnahme der *Dictyostelium discoideum* (Amöben) mittels Fluoreszenzmikroskopie nach 24 h Inkubation mit B100. blau – 4',6-Diamidin-2-phenylindol (DAPI) Fluoreszenzfarbstoff; rot – YL1/2 und Anti-Ratte-Antikörper Alexa Fluor ® 568 Fluoreszenzfarbstoff; grün – autofluoreszierendes GFP und Phalloidin-Alexa Fluor ® 543 Fluoreszenzfarbstoff.

Auf diesen Aufnahmen sind zunächst ca. 10 µm große Zellen zu erkennen. Diese setzen sich aus runden Zellkernen (blau), sternförmigen Fadensystemen der Mikrotubuli mit einem Zentrosom als Mittelpunkt (rote Fäden münden in rotem sphärischem Bereich) und Aktin (grün) zusammen. Der Zellkern ist dabei Träger des Erbguts. Beim Mikrotubuli handelt es sich um ein fadenförmiges Geflecht aus Proteinen, welches die Stabilität und den Stofftransport der Zelle gewährleistet. Beim Aktin handelt es sich um ein Strukturprotein. Bei einer isolierten Zelle ist es anhand der Konzentration (hier: Intensität der Farbe) möglich die Bewegungsrichtung der Amöbe zu erkennen. Außerdem kann anhand von Einstülpungen die Pinozytose (Stoffaufnahme über Vesikel) visualisiert werden. In einigen Fällen sind zwei Zellkerne und zwei Zentrosomen in einer Zelle zu finden. Diese Zellen befinden sich in der einsetzenden Zellteilung, welche bei eukariotischen Zellen mit einer Mitose (Zellteilung) beginnt. Wenn diese Struktur zu erkennen ist, dann ist die Amöbe lebendig. Dies bestätigt indirekt, dass weder das Hydrogel an sich noch eventuelle Extrakte einen zytotoxischen Effekt auf die Zellen auswirken. Dabei ist keine Unterscheidung zwischen den Hydrogeltypen erkennbar.

#### 4.3.6 Fibroblasten<sup>14</sup>

Erste Kontrollexperimente wurden auch mit Fibroblasten durchgeführt. Die dazugehörigen Fluoreszenzaufnahmen sind nachfolgend gezeigt.



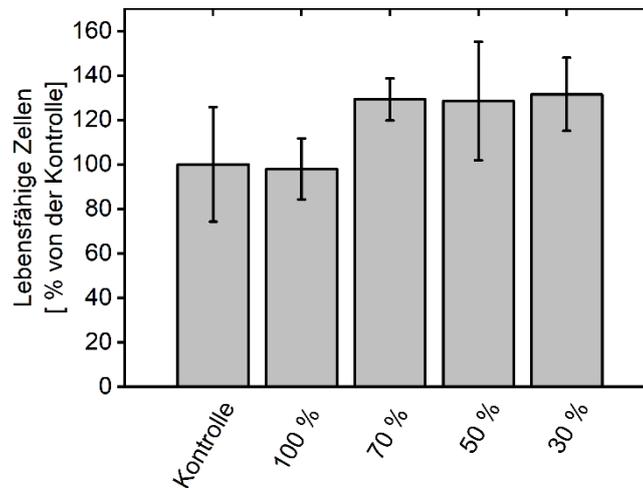
**Abbildung 4.3. 8:** Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der Fibroblasten markiert mit Calcein. Anmerkung: die grüne bzw. gelbe Einfärbung dient lediglich der Kontrastierung und besitzt keine Bedeutung.

Auch in diesem Fall sind rundlich bis ovale Zellen zu erkennen. Weder anhand der Anzahl der Zellen noch der Morphologie kann ein direkter Einfluss der Hydrogele auf die Zellen beschrieben werden. Auffällig ist lediglich, dass auf der Oberfläche des B10s erste ovale Zellen erkennbar sind. Dies spricht für eine erste Adhärenz der Zellen. Um dies näher beschreiben zu können wurde von Christine Arndt (AK Selhuber-Unkel) ein MTT-Test (in

---

<sup>14</sup> Die Datenaufnahme erfolgte in der Arbeitsgruppe von Prof. Selhuber-Unkel in Zusammenarbeit mit Dr. Mohammadreza Taale und Christine Arndt.

Anlehnung an ISO Norm 10993-5) mit dem B10 durchgeführt. Die Ergebnisse sind nachfolgend gezeigt.



**Abbildung 4.3. 9:** Ergebnisse des Zytotoxizitätstest mittels MTT-Test. Als Kontrolle wurde reines Medium verwendet. Die Prozentangaben auf der Abszisse bezeichnen die Konzentrationen des Extraktmediums nach Inkubation mit Hydrogel B10.

Das Hydrogel wurde dazu in Medium für 24 h inkubiert. Anschließend wurden 100 %, 70%, 50 % und 30 % dieses Extraktmediums auf Fibroblasten gegeben und erneut inkubiert. Die lebensfähigen Zellen konnten nun detektiert werden. Als Kontrollprobe diente ein reines Medium und eine zusätzliche Lösung mit 10 % DMSO. Im Falle der Probe mit DMSO konnten keine lebensfähigen Zellen detektiert werden. 100 % Extraktmedium hatte keine signifikante Veränderung der Anzahl lebensfähiger Zellen zur Folge. Für geringe Anteile des Extraktmediums sind sogar mehr lebensfähige Zellen zu beobachten. Dies spricht dafür, dass im Hydrogel keine schädlichen Stoffe enthalten sind. Dies ist im Hinblick auf das Synthesemedium DMF des Vernetzers eine hervorzuhebende Erkenntnis.

### 4.3.7 Saos-2 Zellen<sup>15</sup>

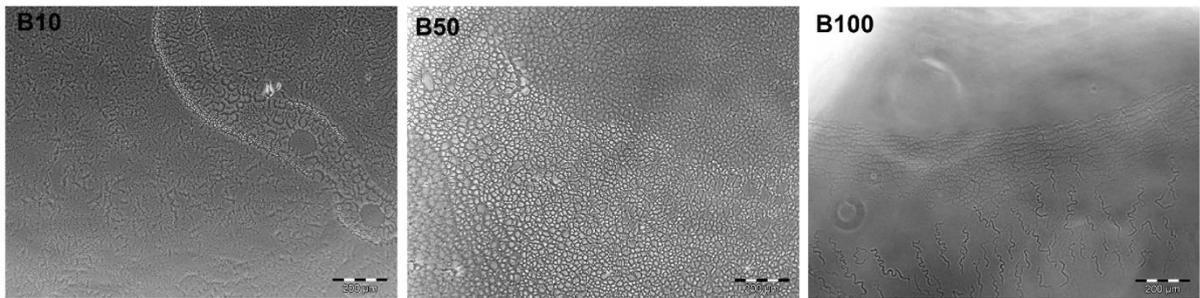
Des Weiteren wurde die Wechselwirkung von den Hydrogelen der B-Reihe mit Saos-2 Zellen analysiert. Dabei handelt es sich um eine Zelllinie, welche aus einem osteogenen Sarkom (krebsähnlich) isoliert wurde.

Als Kontrollprobe für die bildgebende Analytik (Abbildung 4.3. 10) diente hierbei eine Oberfläche aus Styrol.

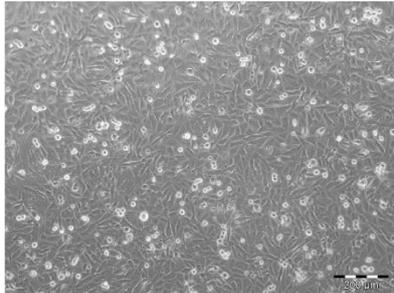
---

<sup>15</sup> Die Datenaufnahme erfolgte in der Arbeitsgruppe von Prof: Anderer durch Dr. Helene Lutter. Aufgrund wechselnder Kontaktpersonen innerhalb der Arbeitsgruppe ist die Datenlage nicht immer eindeutig. Diese Ergebnisse sollen daher als qualitativer Machbarkeitsbeweis angesehen werden.

Hydrogele vor der Kultivierung mit Saos-2 - Zellen

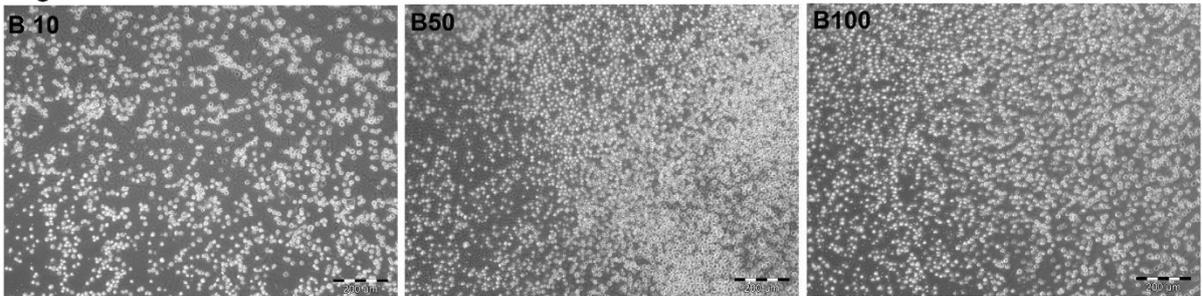


Kultivierung mit Saos-2 Zellen (d1, d2, d7)

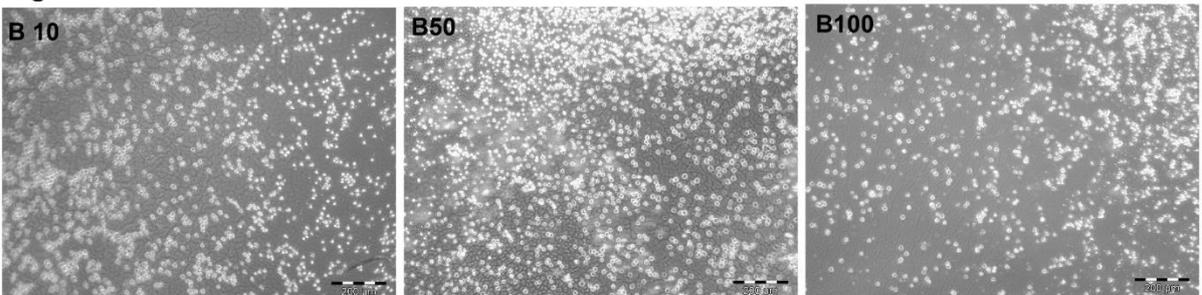


Kontrolle: Saos-2 Zellen auf Polystyrol

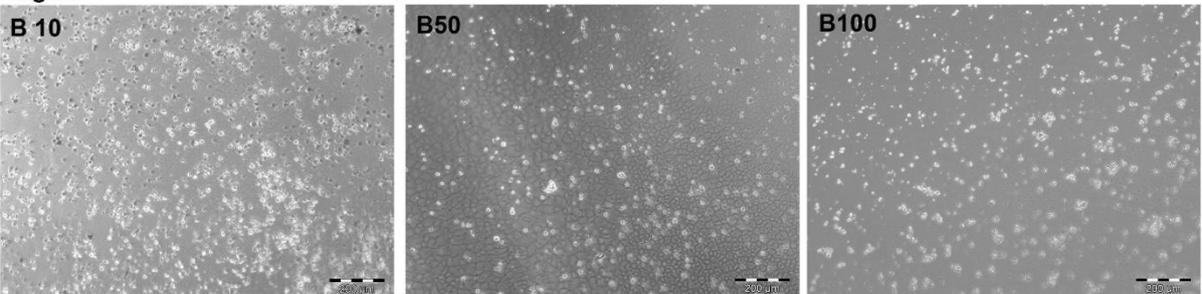
Tag 1:



Tag 2:



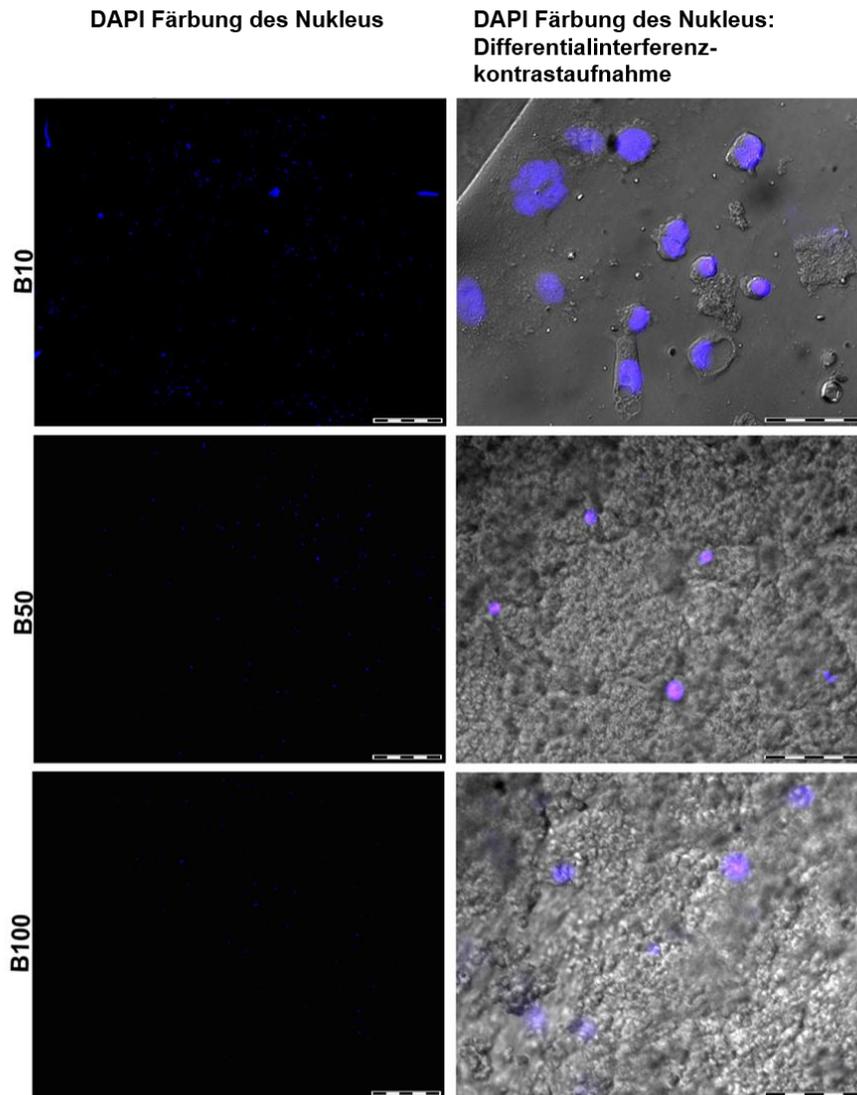
Tag 7:



**Abbildung 4.3. 10:** Aufnahmen der Hydrogele der B-Reihe mit Saos-2 Zellen mit Maßstab 200 µm: a) Vor der Kultivierung mit Saos-2 Zellen; b) Kontrollprobe auf Polystyrol; c) Nach 1, 2 und 7 Tagen und eine Kultivierung mit Saos-2 Zellen.

Hier zeigten sich viele adhärenente Zellen, erkennbar an der langgestreckten Form auf dem Untergrund. Lediglich einige wenige sphärische Zellen, die nicht adhäriert haben, sind sichtbar. Zunächst wurden Aufnahmen der Geloberflächen vor der Inkubation mit Saos-2 Zellen gemacht. Hier zeigten sich, wie bereits im Kapitel 4.1.4 beschrieben, die Oberflächenstrukturen der Hydrogele. Nach einem Tag Inkubation können keine adhärierenden Zellen beobachtet werden. Lediglich die Zelldichte weist Unterschiede zwischen den Geltypen auf. Diese scheint beim B50 am höchsten und beim B10 am geringsten zu sein. Nach zwei Tagen war ebenfalls keine Adhärenz zu beobachten, jedoch kommt es zu einer deutlichen Verringerung der Zelldichte durch Wechselwirkung der Zellen mit den Gelen B50 und B100. Dies setzt sich auch bis zu sieben Tage nach der Inkubation fort. Auch beim B10 ist jetzt eine Verringerung erkennbar. Prinzipiell kann jedoch gesagt werden, dass die Gele keine akut zytotoxische Wirkung auf die Saos-2 Zellen aufweisen. Die Zellen sind auch nach sieben Tagen vital, jedoch stellen die Hydrogele keine geeignete Oberfläche zur Adhäsion da, weshalb der Zelltod eintritt. Eventuell ist auch hier, wie zuvor bei den Amöben erläutert, die Beweglichkeit auf der Geloberfläche eingeschränkt.

Eine weitere mögliche Erklärung für die Verringerung der Zelldichte könnte die Migration der Zellen in das Netzwerkkinnere sein. Daher wurden Differentialinterferenzkontrastaufnahmen mit 4',6-Diamidin-2-phenylindol (DAPI) gefärbten Nukleus gemacht (Abbildung 4.3. 11). Daran zeigte sich eine verringerte Zelldichte mit Abnahme der Vernetzerdichte. Obwohl eine Migration bei allen Typen zu beobachten war, kann hier ebenfalls keine Adhärenz beschrieben werden.



**Abbildung 4.3. 11:** Differentialinterferenzkontrastaufnahmen der Hydrogele B10, B50 und B100 und inkubierter Saos-2 Zellen. Als Färbemittel des Nukleus wurde DAPI zur Markierung der DNS verwendet. Maßstab links – 500  $\mu\text{m}$ ; Maßstab rechts – 50  $\mu\text{m}$ .

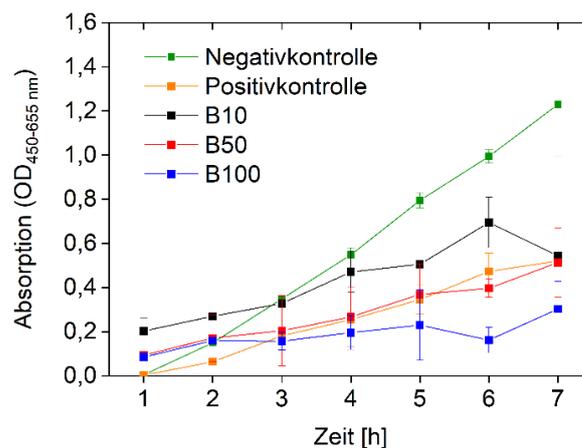
Generell kann gesagt werden, dass die Hydrogele keinen akut zytotoxischen Effekt auf die Saos-2 Zellen auswirken, jedoch adhären die Zellen nicht. Um dies quantifizieren zu können, wurde der Einfluss der Hydrogele auf den Stoffwechsel der Zellen analysiert. Als Negativprobe (Probe ohne Effekt) dienten sogenannte „Sphäroide“. Darunter werden 3D-Zellkulturen zusammengefasst. Als Positivprobe (Probe mit zytotoxischem Effekt) wurde ebenfalls eine Probe der Zellen unter Zusatz des zytotoxischen Wirkstoffs DMSO verwendet. Zunächst wurde mittels WST-8 Test die optische Dichte (OD) des überstehenden Mediums innerhalb 7 h vermessen. Der WST-8 Tests mit dem Orangu™ liefert ausschließlich Ergebnisse mit einem ausgeprägten Fehlerbalken, weshalb eine klare Auswertung ausgeschlossen ist.

Mittels ATP-Test sollte nun die Lebensfähigkeit der Zellen quantifiziert werden. Auch dieses Experiment lieferte keine brauchbaren Ergebnisse, da sogar die Positivprobe (mit zytotoxischem Effekt) keinen signifikanten Einfluss auf die Zellen hatte.<sup>16</sup>

#### 4.3.8 Chondrozyten (Knorpelzellen)<sup>17</sup>

Analoge Experimente zur Untersuchung des Einflusses von den Hydrogelen B10, B50 und B100 auf den Stoffwechsel von Zellen und den möglichen zytotoxischen Effekt wurden mit Chondrozyten (Knorpelzellen) durchgeführt. Als Negativprobe (Probe ohne Effekt) dienen sogenannte „Sphäroide“. Darunter werden 3D-Zellkulturen zusammengefasst, welche in diesem Fall knorpelähnliche Eigenschaften aufweisen. Als Positivprobe (Probe mit zytotoxischem Effekt) wurde auch in diesem Fall eine Probe der Zellen unter Zusatz des zytotoxischen Wirkstoffes DMSO verwendet.

Zunächst würde mittels WST-8 Test die optische Dichte (OD) des überstehenden Mediums innerhalb von 7 h vermessen. Die Ergebnisse des WST-8 Tests mit dem Orangu™ sind in der nachfolgenden Abbildung gezeigt.



**Abbildung 4.3. 12:** Zytotoxizitätstest mittels WST-8 mit dem Einfluss von Hydrogelen auf Chondrozyten. Als Negativkontrolle dienen „Sphäroide“ und als Positivkontrolle „Sphäroide“ behandelt mit 20 % DMSO. Die Verbindungslinien dienen nur der Übersicht und repräsentieren keinen gradlinigen Verlauf zwischen den einzelnen Messpunkten.

Daraus wird ersichtlich, dass die optische Dichte (OD) der Negativkontrolle innerhalb von 7 h stetig bis  $1,23 \pm 0,24$  zunimmt. Bei der Positivkontrolle ist ein geringer Anstieg der OD zu erkennen. Hier ist nach 7 h das Maximum bei  $0,52 \pm 0,01$  zu verzeichnen. Im Vergleich dazu können drei verschiedene Steigungen für die OD des Mediumüberstands der Proben mit Hydrogel beschrieben werden. So steigt die OD für die Probe B10 (schwarz) zunächst

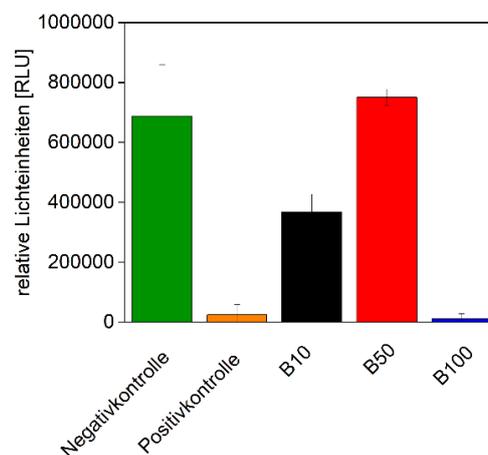
<sup>16</sup> Details sind der Bachelorarbeit von Madleen S. Rietscher zu entnehmen.

<sup>17</sup> Details sind der Bachelorarbeit von Madleen S. Rietscher zu entnehmen. Gezeigte Ergebnisse sind als qualitative Machbarkeitsstudien anzusehen.

kontinuierlich innerhalb der ersten 6 h auf  $0,69 \pm 0,11$  an. Anschließend erfolgt ein Abfall auf  $0,54 \pm 0,01$ . Für die Proben B50 (rot) kann ein analoger Verlauf beschrieben werden. Hier steigt die OD innerhalb von 7 h auf  $0,51 \pm 0,16$  an. Der leichte Abfall nach 6 h ist hier nicht signifikant ausgebildet, jedoch verbleibt die OD hier annähernd konstant. B100 (blau) hingegen weist einen komplett anderen Verlauf auf. Nach ca. 5 h ist ein erstes Maximum bei  $0,23 \pm 0,16$  zu erkennen. Dem schließt sich ein Minimum nach 6 h bei  $0,16 \pm 0,06$  an. Nach 7 h ist mit  $0,30 \pm 0,13$  das neue Maximum erreicht.

Auch hier kann wieder die Korrelation -höhere Dichte gleichbedeutend mit mehr Zellen- angeführt werden. Bis zu 3 h weisen B10 und B50 keinen zytotoxischen Effekt auf die Chondrozyten auf. Im Gegenteil, die OD ist höher als bei der Negativprobe, was somit sogar ein verstärktes Wachstum impliziert. B100 hingegen ist ab Beginn der Messung zytotoxisch für die Zellen. Ab 3 h weisen dann alle drei Hydrogelypen einen zytotoxischen Effekt auf. Die Messpunkte der OD liegen alle unterhalb der Messwerte der Negativkontrolle. Dabei ist anzumerken, dass B50 Messwerte im Bereich der Positivkontrolle zeigt und B100 sogar Werte deutlich unter diesen. Somit ist der zytotoxische Effekt von B50 vergleichbar mit 20 % DMSO. B100 zeigt dementsprechend ein stärker zytotoxisches Verhalten als die Positivkontrolle.

Um dies näher beschreiben zu können, wurden ATP-Tests durchgeführt. Eine hohe Zelldichte ist nicht immer gleichbedeutend mit überlebensfähigen Zellen. Da jedoch das ATP nur von lebenden Zellen produziert werden kann, ist dieser Test zur Einschätzung der Zellviabilität geeignet. Die Ergebnisse sind nachfolgend dargestellt.



**Abbildung 4.3. 13:** Zytotoxizitätstest mittels ATP-Messung mit dem Einfluss von Hydrogelen auf Chondrozyten. Als Negativkontrolle dienen „Sphäroide“ und als Positivkontrolle „Sphäroide“ behandelt mit 20 % DMSO.

Nach den 7 h ist im Medium der Negativkontrolle (grün) mit hoher OD eine hohe relative Lichteinheit (RLU) von ca. 69.000 gemessen worden. Wohingegen im Medium der Positivkontrolle (orange) mit geringer OD eine geringe RLU von ca. 24.000 detektiert wurde. Aufgrund des hohen Fehlerbalkens ist hier jedoch der Wert nicht zu verwenden. Tendenziell

sollte aber von einem geringen Wert ausgegangen werden. Die RLU des überstehenden Mediums der Hydrogelproben variiert in Abhängigkeit des Netzwerks. Bei B10 (schwarz) wurde eine etwa halb so große RLU von ca. 37.000 im Vergleich zur Negativkontrolle gemessen. B50 (rot) weist die höchste RLU von ca. 75.000 und B100 die niedrigste von 12.000 auf.

Setzt man nun die Ergebnisse des WST-8 Test mit diesen ATP-Messungen in Korrelation, kann man folgende Trends formulieren. Auf dem Hydrogel B10 scheinen sich viele Zellen zu befinden. Dies wird deutlich an einer hohen OD, jedoch ist der ATP Gehalt deutlich geringer, was man an der geringen RLU ablesen kann. Somit folgt, dass zwar viele Zellen im Medium sind, jedoch ein nicht zu vernachlässigender Anteil nicht mehr lebensfähig ist. Demgegenüber stehen die Ergebnisse für die Probe B100. Eine geringe OD ( $\hat{=}$  wenige Zellen) wird unterstützt mit geringer RLU ( $\hat{=}$  wenig lebendig). Für die Probe B50 sind die Ergebnisse nicht gleichbedeutend. Hier wurde eine geringere OD vermessen, jedoch die höchste RLU. Somit sind hier zwar weniger Zellen vorhanden, jedoch viele davon lebendig.

Um auszuschließend, dass Zellen im Hydrogelinneren nicht von der Lyse betroffen waren, wurden eine Propidiumiodid (PI) Färbung und Färbung mit 4',6-Diamidin-2-phenylindol (DAPI) vorgenommen. PI kann durch perforierte Zellmembranen hindurch und somit nicht lebende Zellen durch Interkalation mit DNA sichtbar machen. DAPI hingegen kann auch intakte Membranen überwinden. Lediglich in Schnitten der Probe B50 wurden DAPI gefärbte Zellen gefunden. Somit kann angenommen werden, dass die Lyse der Zellen in der Mehrheit erfolgreich war.

Zur Verfolgung der Differenzierung<sup>18</sup> der Chondrozyten wurde eine Reihe von Experimenten durchgeführt. Dazu gehören z.B. die Färbung von Aktin mit AlexaFluor 488 Phalloidin, Immunfluoreszenzfärbungen von Proteoglykan (Bestandteil der extrazellulären Matrix), Sox9 (Protein von proliferierenden Chondrozyten), Ki67 (Protein von sich teilenden menschlichen Zellen) und Kollagen I und II. Auch die Bestimmung des Calcium- und Phosphatanteils wurde vorgenommen. Details sind der Bachelorarbeit von Madleen Sabine Rietscher 2020 zu entnehmen.<sup>239</sup> An dieser Stelle soll nur auf die Morphologie der Zellen eingegangen werden. Diese wurde über einen Monat mittels Phasenkontrastmikroskops dokumentiert. Hier zeigte sich, dass innerhalb der ersten Woche miteinander verbundene Zellaggregate auf der Hydrogeloberfläche von B10 und B50 anzutreffen sind. Sowohl die Zelldichte als auch die Größe der Aggregate nehmen über den weiteren Beobachtungszeitraum ab. Auf der Oberfläche von B50 verändert sich zudem die Form der Aggregate von rund zu oval. Lediglich auf der Oberfläche von B100 sind keine Aggregate zu erkennen, sondern eine konfluente Zellschicht bestehend aus runden Zellen.

---

<sup>18</sup> Anmerkung: Hier widersprechen sich leider Daten der Bachelorarbeit und zugeschickte Rohdaten. Daher ist eine genaue Zeitangabe nicht möglich.

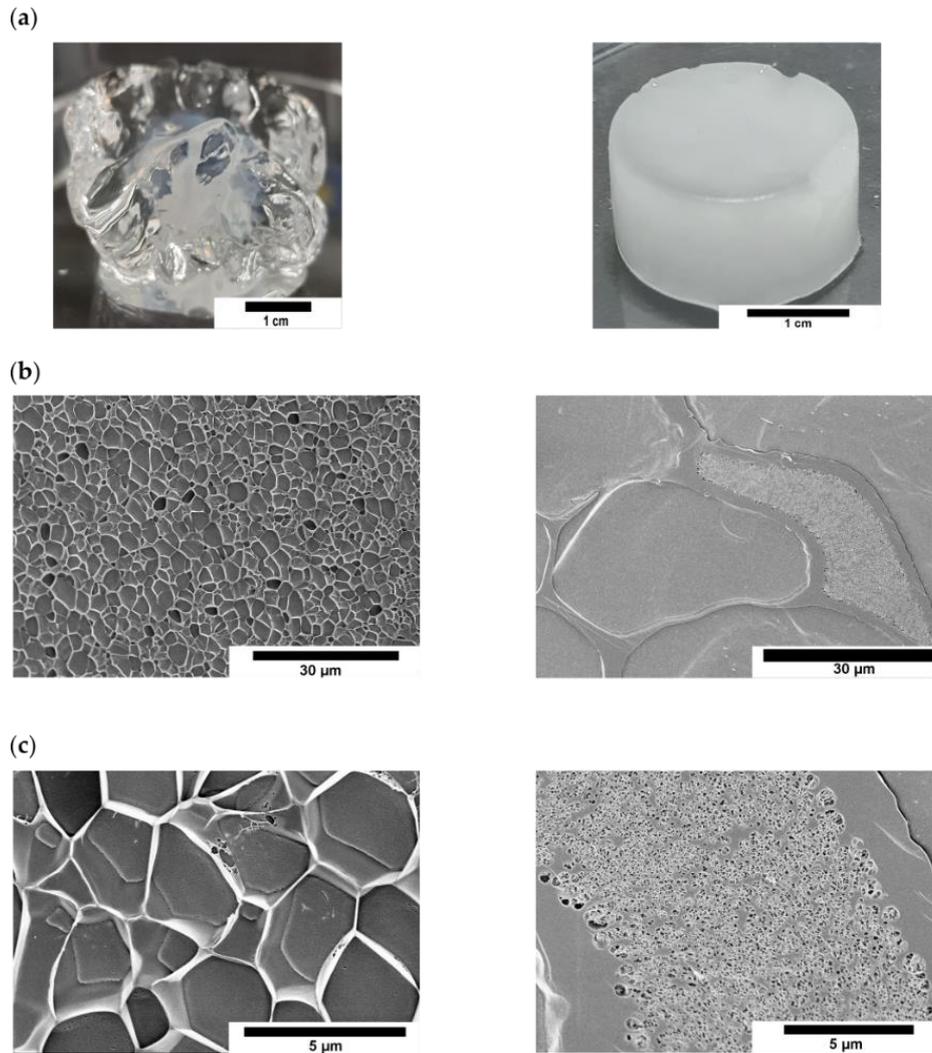
Nimmt man die Ergebnisse mit den Beobachtungen der Immunfluoreszenzfärbungen zusammen, können folgende Aussagen bezüglich der Differenzierung von Chondrozyten auf der Hydrogeloberfläche getroffen werden. Auf der Hydrogeloberfläche B10 und B50 ist eine Aggregation und damit Bildung eines Sphäroids zu erkennen. Diese sind jedoch nur für die erste Woche wahrnehmbar. Dies spricht dafür, dass die Zellen zwar überleben, jedoch eine direkte Adhärenz nicht erkennbar ist, sodass bei einem längeren Beobachtungszeitraum der Zelltod einsetzt.

## **4.4 Anwendungsspektrum durch Photopolymerisation und Redoxpolymerisation**

Die entwickelten Hydrogele können nicht nur zur Grundlagenforschung im Bereich Polymerchemie und anorg. Mineralisation verwendet werden. Vielmehr ist der Anwendungsbereich nahezu unbegrenzt, wie es auch für kommerzielle Hydrogele bekannt ist. Daher sollen in diesem letzten Kapitel einige Anwendungsmöglichkeiten anhand von ersten Testlinien präsentiert werden.

### **4.4.1 Kryogele durch Redoxpolymerisation zur Anwendung als Filtermaterial**

Über eine freie radikalische Polymerisation in Wasser konnten Hydrogele durch Redoxinitierung synthetisiert werden. Bei Raumtemperatur erfolgte die Gelierung bereits nach 5-10 min. Nach 20 min sind transparente Materialien mit einem Durchmesser von ca. 2,5 cm zu erhalten. Im Gleichgewichtsquellzustand war keine regelmäßige Form zu erhalten. Demgegenüber stehen farblose, nicht transparente Materialien, welche nach drei Tagen im Gefrierschrank (-32°C) isoliert werden konnten. Dabei betrug im GG. Quellzustand der Durchmesser  $2.3 \pm 0,1$  cm, die Dicke  $1.4 \pm 0,1$  cm und die Masse  $4,63 \pm 0,11$  g. Weiterführende Charakterisierung bezüglich des Wassergehaltes und der Strukturaufklärung mittels IR-Spektroskopie sind dem Experimentalteil zu entnehmen. Kryo-REM Aufnahmen (Abbildung 4.4. 1) zeigen eine Abhängigkeit der Netzwerkstruktur von der Temperatur während der Synthese. Das Netzwerk infolge der Synthese bei RT besitzt kein durchgehendes Porensystem. Lediglich inhomogen wabenartige Strukturen im Bereich von 10 µm mit 1-2 µm hohen Wänden sind zu erkennen. Demgegenüber stehen Poren von ca. 30 µm, wenn die Synthese bei -32°C erfolgte, jedoch scheinen auch diese nicht durchgehend miteinander verbunden zu sein. Entweder handelt es sich dabei um Eisartefakte oder eine nachgelagerte Polymerisation der Poren infolge des Tauprozesses. Inhomogen verteilt sind Strukturen im Bereich von 1 µm zu erkennen, welche eine Ähnlichkeit mit den in Kapitel 4.1.4 beschriebenen Netzwerken aufweisen.



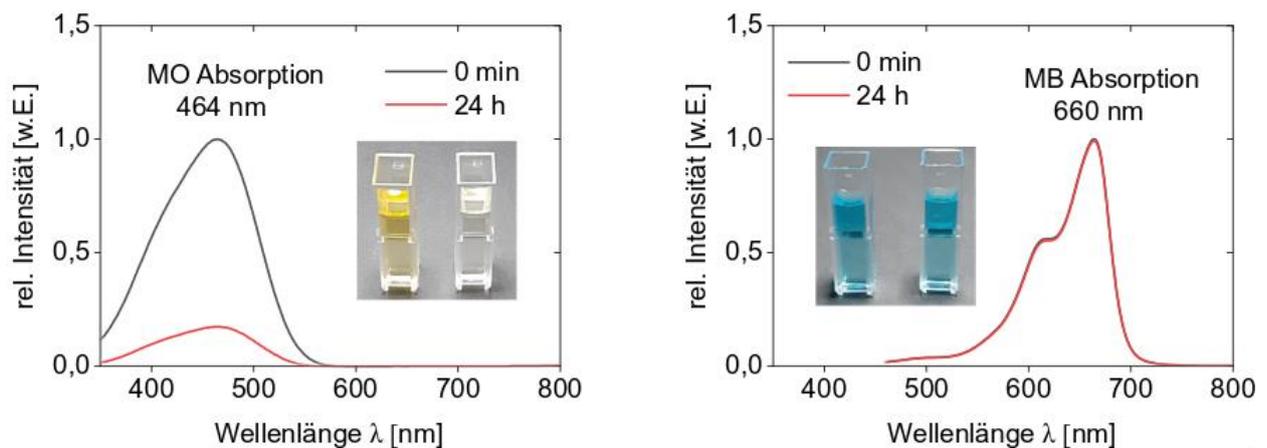
**Abbildung 4.4. 1:** Kryo-REM Aufnahmen der Hydrogele mittels Redoxinitiation. links – Netzwerk des Hydrogels durch Synthese bei RT; rechts – Netzwerk des Kryogels durch Synthese bei  $-32^{\circ}\text{C}$ .

Während der vorangegangenen Methoden war besonders die Eigenschaft in Bezug der Aufnahme verschiedenster Lösungen im Hydrogel auffällig (Abbildung 4.4. 2). Daher soll diese Adsorptionsfähigkeit quantitativ und qualitativ analysiert werden.



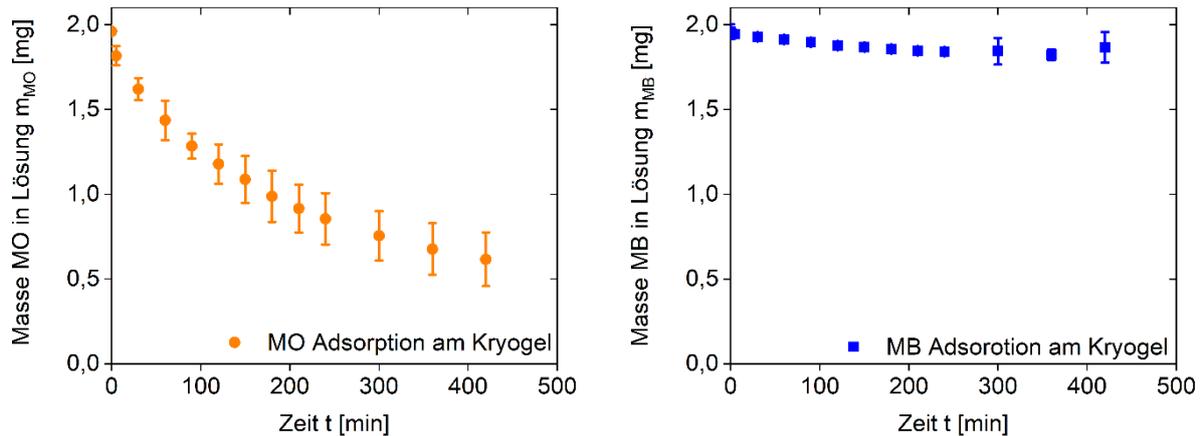
**Abbildung 4.4. 2:** Eigenes Foto vom 04.05.2021 vom Kryogel in diversen Medien für 1 d gequollen. Blau: Methylblau; Orange: Methylorange; Rosa: DMEM; Grün; Bromthymolblau. Bei Zugabe von  $\text{HCl}$  (aq) kann der Farbumschlag nach Orange beobachtet werden. Dies ist mit  $\text{NaOH}$  (aq) reversibel. Durchmesser der Kryogele ca. 2,3 cm.

So sollen anschließende Adsorptionsmessungen mittels UV-Vis - Spektroskopie zeigen, ob sich das Material zur Reinigung von Abwässern eignet. Dazu wurden 50 mg/L Stammlösungen von Methylorange (MO) und Methylenblau (MB) verwendet. 40 mL dieser Farbstofflösung wurden zusammen mit dem Kryogel unter Rühren für 24 h stehen gelassen. Beim Vergleich der aufgenommenen Spektren (Abbildung 4.4. 3) zeigt es sich, dass die rel. Intensität der Bande bei 464 nm nach 24 h um ca. 97 % abnimmt. Erkennbar ist dies auch an der fast farblosen und klaren Lösung in der Küvette. Im Vergleich dazu ist bei der Bande bei 660 nm kaum eine Veränderung nach 24 h sichtbar.



**Abbildung 4.4. 3:** Vergleich der Spektren am Beispiel einer Messung; links – Methylorange (MO) nach 0 (schwarz) und 24 h (rot); rechts – Methylenblau nach 0 (schwarz) und 24 h (rot). Jeweils enthalten sind eigene Fotos vom Mai 2020 der dazugehörigen gemessenen Küvetten mit 200  $\mu$ L Probenlösung und 1,8 mL Reinstwasser.

Aus den Spektren erfolgte die Berechnung der Masse der Farbstoffe in der verbleibenden Lösung (Abbildung 4.4. 4). Hier zeigt es sich, dass das Kryogel eine Reduzierung der MO Masse von ca. 2,0 mg auf 0,3 mg erreichen kann. Somit konnten ca. 85 % des Farbstoffes aus der Lösung entfernt werden. Im Falle des MB kann eine geringere Reduktion von ca. 2,0 auf 1,8 mg (8 %) beschrieben werden. Um dies weiterhin beurteilen zu können, wurden Vergleichsmessungen durchgeführt. Hier zeigte sich, dass eine Adsorption auch am exp. Aufbau, genauer gesagt Schraubdeckelbehälter, PP-Tisch und Rührmagnet, zu beobachten ist. Sowohl MO (ca. 5 %) als auch MB (ca. 4 %) adsorbieren. Unter Berücksichtigung erfolgt die tatsächliche Kapazität des Kryogels auf ca. 80% (MO) und 4 % (MB).



**Abbildung 4.4. 4:** Auftragung der Masse an org. Farbstoff in Lösung in Abhängigkeit von der Zeit; links – MO; rechts – MB.

Zur Veranschaulichung ist in Abbildung 4.4. 4 außerdem die Massenänderung in Abhängigkeit von der Zeit innerhalb der ersten 7 h dargestellt. Anhand dieser Auftragung wird deutlich, dass die Masse an MO in Lösung nach 200 min von 2,0 auf 1,0 mg halbiert werden kann. Anschließend erfolgt die Massenabnahme in den nächsten 420 min bis auf ca. 0,62 mg. Mit Hilfe der Fehlerbalken besonders im Bereich 200 bis 420 min lässt sich zudem formulieren, dass hier Anzahl an effektiver Ladung an der Oberfläche des Gels geringer scheint, da diese z.T. gesättigt mit Farbstoffmolekülen vorliegen. Infolgedessen ist die Wahrscheinlichkeit eines erfolgreichen Zusammentreffens des Farbstoffes mit dem Kryogel geringer als zu Beginn des Adsorptionsvorgangs. Demgemäß ist der Adsorptionsvorgang verlangsamt und abhängig von der brownischen Molekularbewegung bzw. der Durchmischung durch den Rührprozess. Indessen bleibt die Masse des MB nahezu konstant. Eine sukzessive Reduzierung ist lediglich in den ersten 200 min zu erkennen. Nach insgesamt 24 h wird die Masse an Farbstoff in der Lösung weiter reduziert. Die entsprechenden Daten sind in der Tabelle 4.4. 1 zusammengefasst. Somit wird die Masse an MO in Lösung nochmal von ca. 0,62 mg auf 0,30 mg halbiert. Demgegenüber kann nur eine geringe Reduzierung der Masse von MB von ca. 1,87 mg auf 1,79 mg beobachtet werden.

**Tabelle 4.4. 1:** Vergleich der Masse an org. Farbstoff in der Lösung zu Beginn der Messung (0 h), nach 7 h und nach 24 h.

Zeit [h]	Masse MO in Lösung $m_{MO}$ [mg] <sup>1</sup>	Masse MB in Lösung $m_{MB}$ [mg] <sup>1</sup>
0	1,96 ± 0,02	1,96 ± 0,04
7	0,62 ± 0,16	1,87 ± 0,09
24	0,30 ± 0,09	1,79 ± 0,01

<sup>1</sup> Rohdaten ohne Berücksichtigung der Vergleichsmessungen

Diese Präferenz, MO gegenüber MB adsorbieren zu können, ist zunächst über die Ladung der Farbstoffe zu erklären. MO besitzt aufgrund der Sulfonatgruppe eine negative Ladung, MB eine positive, welche durch den quartären Stickstoff zustande kommt. Das Kryogel mit sulfobetainischer Struktur und damit zwitterionischem Charakter besitzt zusätzliche positive Ladungen des Vernetzers TMBEMPA/Br. Daraus lässt sich die Hypothese aufstellen, dass negative Ladungen des Netzwerks durch den Überschuss an positiver Ladung kompensiert werden und damit eine geringere Adsorptionskapazität aufweisen.

Die dazugehörige Kapazität der Sorption  $q$  bezogen auf 1 g der eingesetzten Masse des Kryogels kann nun aus den Daten berechnet werden. Tabelle 4.4. 2 fasst dies für die ersten 7 h und nach 24 h zusammen. Demnach ist die Kapazität der Sorption von MO nach 7 h bei ca. 0,28 mg/g und nach 24 h 0,35 mg/g. Für MB kann dies nur nach 24 h berechnet werden, da die Zahlenwerte zu gering sind und daher der Fehler überwiegt. Nach 24 h beträgt die Kapazität 0,01 mg/g.

**Tabelle 4.4. 2:** Kapazität der Sorption  $q$  [mg/g] nach 7 h und 24 h für die einzelnen Farbstoffe.

Zeit [h]	Kapazität der Sorption $q$ von MO [mg/g]	Kapazität der Sorption $q$ von MB [mg/g]
7	0,278 ± 0,039	nicht bestimmbar
24	0.345 ± 0.024	0,012 ± 0.008

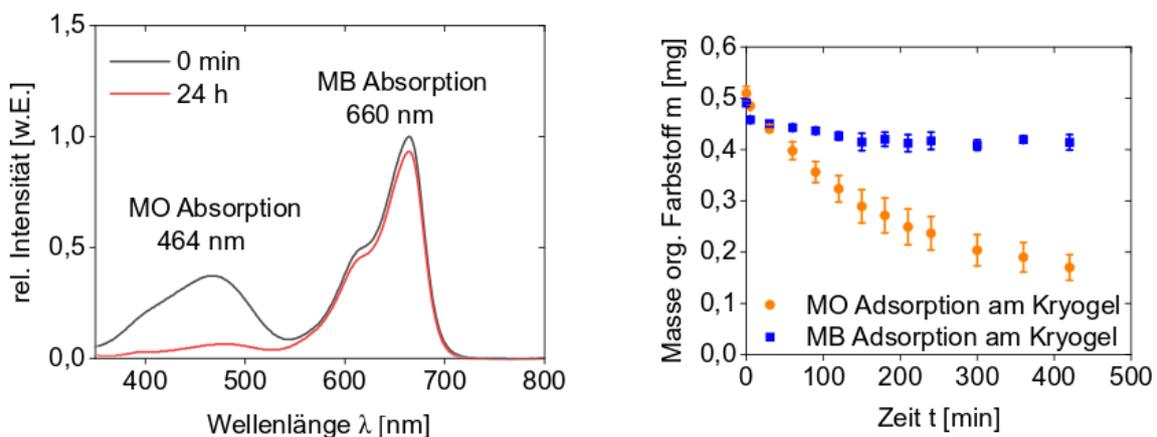
Dieser Werte können jedoch nicht isoliert betrachtet werden. In dem vorgestellten Experiment geht es lediglich um eine Machbarkeitsstudie. Zyklen von mehreren Adsorptionsprozessen konnten nur qualitativ bestätigt werden. Somit beinhaltet der Wert  $q$  in diesem Fall nicht die maximale Adsorptionskapazität.

Um die Präferenz der Adsorption von MO gegenüber MB weiterhin verifizieren zu können wurde eine verdünnte Mischung (jeweils 12,5 mg/L pro Farbstoff) beider org. Farbstoffe verwendet. Auch in diesem Fall zeigt sich in den aufgenommenen Spektren eine Veränderung der Bande bei 464 und 660 nm. Bei 464 nm ist eine Verringerung der rel. Intensität um 84 % nach 24 h zu erkennen, wohingegen bei 660 nm lediglich eine Verringerung um 7 % detektiert werden konnte. Zur Demonstration soll das Foto der beiden Küvetten (Abbildung 4.4. 5 links) dienen. Hier zeigt es sich, dass die transparent grüne Farbe nach 24 h eher blau erscheint. Auch das Kryogel ist nach 24 h nicht mehr weiß, sondern orange mit einer blauen Schattierung (Abbildung 4.4. 5 rechts).



**Abbildung 4.4. 5:** Eigenen Fotos vom Mai 2020 zur Demonstration der selektiven Adsorption von MO gegenüber MB. Links – Küvetten mit den gemessenen Lösungen mit 200  $\mu$ L Probenlösung und 1,8 mL Reinstwasser. Die linke Küvette enthält die Probenlösung zu Beginn der Experimente und die rechte Küvette die Lösung mit der Probenlösung nach 24 h. Rechts – Kryogel zu Beginn des Experimentes (links) und nach 24 h (rechts).

Bezüglich der Änderung der Masse an Farbstoff in Lösung über 24 h können analoge Werte zur Einzelmessung beobachtet werden. Die Masse von MO reduziert sich um ca. 85 % von 0,50 auf 0,08 mg. Die Masse an MB wiederum ist um weniger als 0,05 mg verringert, was einer prozentualen Abnahme von 9-10 % entspricht. Die entsprechenden Spektren und die Auftragung der Massenänderung sind nachfolgend gezeigt.



**Abbildung 4.4. 6:** Zusammenfassung der Ergebnisse der selektiven MO Adsorption. Links - Vergleich der Spektren am Beispiel einer Messung; Rechts - Auftragung der Masse an org. Farbstoff in Lösung in Abhängigkeit von der Zeit.

Auch hier ist der Einfluss des experimentellen Aufbaus zu berücksichtigen. Dieser scheint etwas ausgeprägter als bei den Einzelmessungen zu sein. Möglicherweise ist hier von einer Art „*layer-by-layer*“ Adsorption der Farbstoffe als Ursache auszugehen. Diese wird bereits bei Polymeren etc. zur Bildung von Schichtsystemen ausgenutzt. Am Kryogel ist diese alternierende Adsorption eher unwahrscheinlich, da die Funktionalität des Farbstoffs direkt mit dem Netzwerk wechselwirkt und damit nicht mehr als effektive Ladung vorliegt. Betrachtet man die ersten 420 min des Adsorptionsprozesses kann auch hier bestätigt werden, was in den Einzelmessungen beschrieben wurde. Der Großteil der Adsorption von MO findet in den ersten ca. 200 min statt. Auch die Betrachtungen der Fehlerbalken spiegeln analoge Ergebnisse wider. Die Kapazität der Sorption (Tabelle 4.4. 3) von MO ist dabei mit 0,07 (nach 7 h) bzw. 0,09 (nach 24 h) höher als von MB mit 0,01 (nach 7 h) bzw. 0,004 (nach 24 h). Die Diskrepanz der Werte für MB lassen sich wiederum durch die geringen Zahlenwerte zur Berechnung begründen.

**Tabelle 4.4. 3:** Kapazität der Sorption  $q$  [mg/g] nach 7 h und 24 h für die einzelnen Farbstoffe in einer 1:1 Mischung.

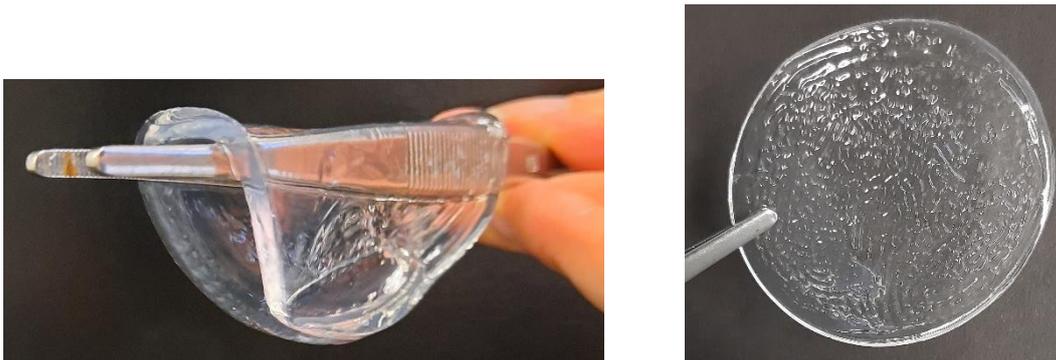
<b>Mischung 1:1</b>		
<b>Zeit [h]</b>	<b>Kapazität der Sorption <math>q</math> von MO [mg/g]</b>	<b>Kapazität der Sorption <math>q</math> von MB [mg/g]</b>
7	$0,070 \pm 0,006$	$0,011 \pm 0,004$
24	$0,090 \pm 0,003$	$0,004 \pm 0,002$

Übereinstimmende Beobachtungen konnten auch bei einer erhöhten Ausgangskonzentration von 25 mg/L je Farbstoff gemacht werden, jedoch ist in diesem Fall eine Aggregatbildung der entgegengesetzt geladenen Farbstoffe möglich, vor allem nach > 24 h ist dies an der Bildung eines flockigen Feststoffes zu belegen.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass das Kryogel eine stärkere Adsorptionskapazität von MO gegenüber MB besitzt. Dies ändert sich weder durch die Konzentration des Farbstoffes noch durch simultan vorliegende Farbstoffe. Somit ist eine kompetitive Adsorption von MO gegenüber MB möglich. Dadurch kann die Mischung von einem Verhältnis 1:1 von MO zu MB auf ca. 1:6 reduziert werden. An dieser Stelle ist jedoch anzumerken, dass das Adsorbens nicht eindeutig festgelegt werden kann. Aufgrund des Anteils an TMBEMPA/Br ist nicht auszuschließen, dass das SPE keine Auswirkung auf das Adsorptionsverhalten des Materials zeigt.

#### 4.4.2 Membranen durch Photopolymerisation

Über eine thermisch initiierte Polymerisation können Hydrogele mit verschiedensten Geometrien synthetisiert werden, jedoch ist die Reduktion der Probendicke nicht uneingeschränkt möglich. Infolge einer Schrumpfung des Probenkörpers während der Synthese entstehen vor allem in der Probenmitte ausgedünnte Bereiche, welche reißen. Um diesen Nachteil zu umgehen, sollte eine photoinitierte Polymerisation getestet werden. Durch den Austausch des Initiators KPDS gegen Irgacure® 2959 konnten erfolgreich Hydrogele synthetisiert werden. Lediglich das Lösungsmittelvolumen musste halbiert werden. Auch in diesem Fall ist der limitierende Faktor die Form des Synthesebehälters. Im Gegensatz zur thermisch initiierten Polymerisation ist es möglich Membranen mit einer Dicke von  $< 0,5$  cm und einem Durchmesser von  $7,7 \pm 0,1$  cm zu generieren (Abbildung 4.4. 7 links). Details bezüglich der weiteren Syntheseoptimierung sind der von mir betreuten Bachelorarbeit von A.-C. Lehnen zu entnehmen.<sup>158</sup> Durch sukzessiven Wasserentzug bei RT können Xerogele mit einem Durchmesser von 4,7 cm und einer Dicke von 1 mm generiert werden (Abbildung 4.4. 7 rechts).

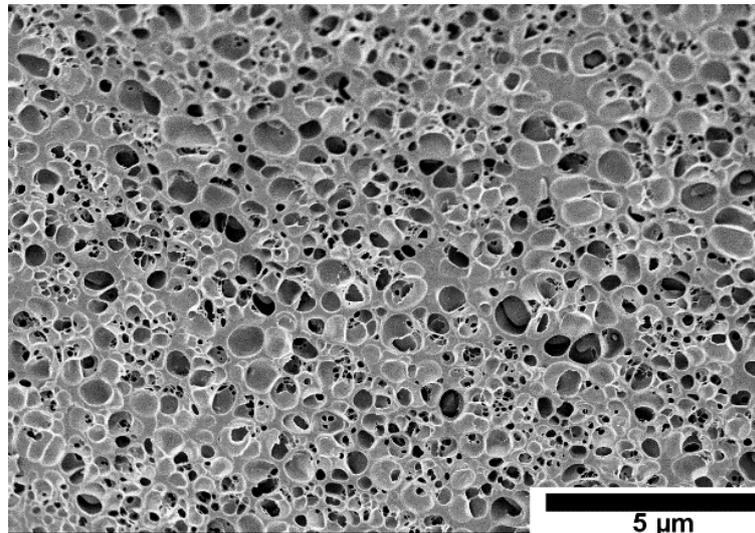


**Abbildung 4.4. 7:** Eigene Fotos der Hydrogelmembran photo B50. Links- Im Gleichgewichtsquellzustand mit einem Durchmesser von 7,7 cm; Rechts: Als Xerogel mit einem Durchmesser von 4,7 cm und einer Dicke von 1 mm.

Konträr zu den Hydrogelen B50 und B100 weisen diese Materialien durchgehend eine transparente farblose Eigenschaft auf. Eine Trübung der Hydrogele ist zu keiner Zeit zu erkennen. Erklärt werden kann dies über die verminderte Beweglichkeit der Seitenketten bei RT. Die intermolekulare Wechselwirkung wird dadurch reduziert. Eine Clusterbildung der Ladungen wird verhindert, weshalb keine neuen Streuzentren im Material gebildet werden, welche dann als Trübung wahrnehmbar wären. Auch eine veränderte Vernetzungsdichte wäre hier zu diskutieren, welche anhand der Elementaranalyse (s. Kapitel 7.3.5) nicht kalkuliert werden konnte.

Mittels Kryo-REM kann eine analoge Struktur, wie bei den Hydrogelen synthetisiert durch thermische Initiierung, beobachtet werden. Lediglich Netzwerkstrukturen innerhalb der maximal 1  $\mu\text{m}$  großen Poren fehlen und die Porenverteilung wirkt insgesamt homogener

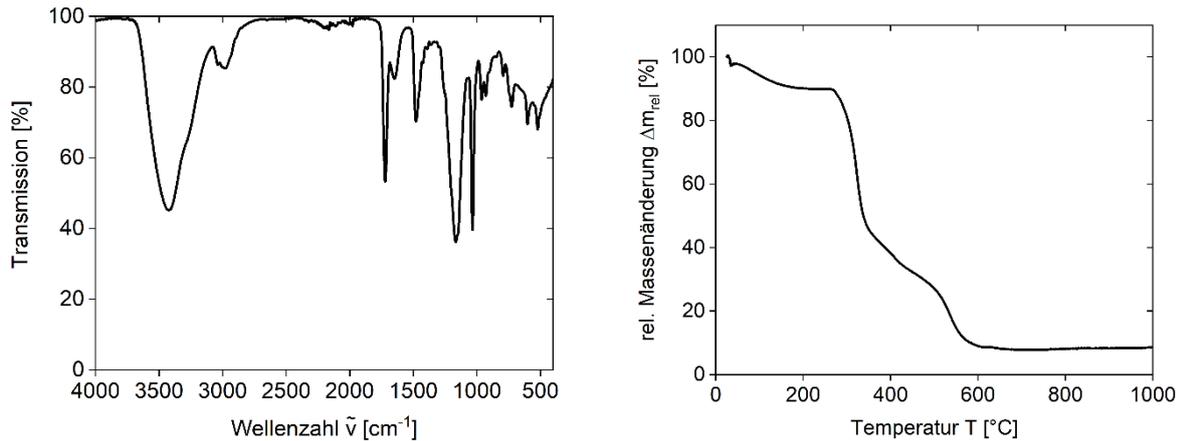
(Abbildung 4.4. 8). Folglich ist die Bildung der Netzwerkstruktur nicht abhängig vom Initiierungsschritt.



**Abbildung 4.4. 8:** Analyse der Netzwerkstruktur von photoB50 mittels Kryo-REM.

Auch strukturell sind keine signifikanten Unterschiede mittels IR-Spektroskopie erkennbar (Abbildung 4.4. 9 links). Auch hier können O-H-Schwingungen ( $3423$  und  $1649\text{ cm}^{-1}$ ), N-H Schwingungen ( $3038$  und  $2978\text{ cm}^{-1}$ ), Carbonylschwingungen ( $1722\text{ cm}^{-1}$ ), C-N Schwingung ( $1167\text{ cm}^{-1}$ ) Schwingungen der  $\text{SO}_3^-$ -Gruppe ( $1035\text{ cm}^{-1}$ ) und verschiedenste C=C, C-C und C-H Schwingungen ( $3038$ ,  $2978$ ,  $1480$ ,  $963$ ,  $930$ ,  $794$ ,  $727$ ,  $601$  und  $522\text{ cm}^{-1}$ ) detektiert werden.

Die Auswirkungen der Temperatur auf das Material wurden mittels TGA analysiert (Abbildung 4.4. 9 rechts). Ab ca.  $55^\circ\text{C}$  kann eine Gewichtsabnahme um ungefähr 10% bis ca.  $200^\circ\text{C}$  beobachtet werden. Daran schließt sich ein stufenweiser Massenverlust von  $>80\%$  im Temperaturbereich von  $265^\circ\text{C}$  bis  $650^\circ\text{C}$  an. Dieser gliedert sich in zwei überlagernde Stufen, weshalb eine genaue Trennung nicht möglich ist. Eine Restmasse von ca. 8 % ist als Gerätefehler einzuordnen, da im Tiegel kein Probenmaterial zu beobachten war. Im Vergleich zu Hydrogelen B10, B50 und B100 ist kein signifikanter Unterschied im Verlauf zu erkennen. Lediglich eine Verschiebung zu kleineren Temperaturen ist aufzuführen. Somit werden die thermischen Eigenschaften ebenfalls nicht durch den Synthesemechanismus beeinflusst. Auch die Zuordnung der Stufen zu einem thermischen Prozess kann daher analog zum Vorherigen gesehen werden.



**Abbildung 4.4. 9:** FT-ATR-IR-Spektrum (links) und TGA-Verlauf (rechts) vom Material photoB50.

Testweise wurden diese Hydrogele als Osmosemembran verwendet. Das photoB10 ist dabei zu unbeweglich um eingespannt werden zu können. Dagegen ist das photoB100 zu fragil für diesen Verwendungszweck. Daher wurden alle folgenden Testlinien mit dem photoB50 durchgeführt. Drei generelle Anordnungen wurden dafür entwickelt. Als Erstes eine Mineralisation über doppelte Diffusion. Dies beinhaltet eine  $\text{CaCl}_2$ -Lsg. gefüllte Kammer und eine mit Sørensenpuffer. Das photoB50 fungiert als Membran und verfärbte sich in weniger als 5 min weiß. Ein Feststoffausfall in den Kammern konnte im betrachteten Zeitraum nicht beobachtet werden. Als Zweites wurde ein Aufbau zur Protonendurchlässigkeit auf Basis der vorangegangenen Arbeit gewählt.<sup>211</sup> Dazu wurde eine Kammer mit ca. 0,001 mol/L Salzsäure und die andere Kammer mit Reinstwasser befüllt. Zuletzt erfolgt die selektive Adsorption von MO gegenüber MB in Anlehnung an die Beobachtungen der Experimente mit dem Kryo-Gel. Eine Kammer wurde mit der MB/MO Mischung befüllt. Gegenüber diente Reinstwasser als Referenz. Bei beiden zuletzt genannten Experimenten können keine reproduzierbaren Ergebnisse formuliert werden, da die Membran riss. Dagegen konnten Vielversprechende erste Prototypen mit der Beimengung von HAP während der Synthese generiert werden (Abbildung 4.4. 10).

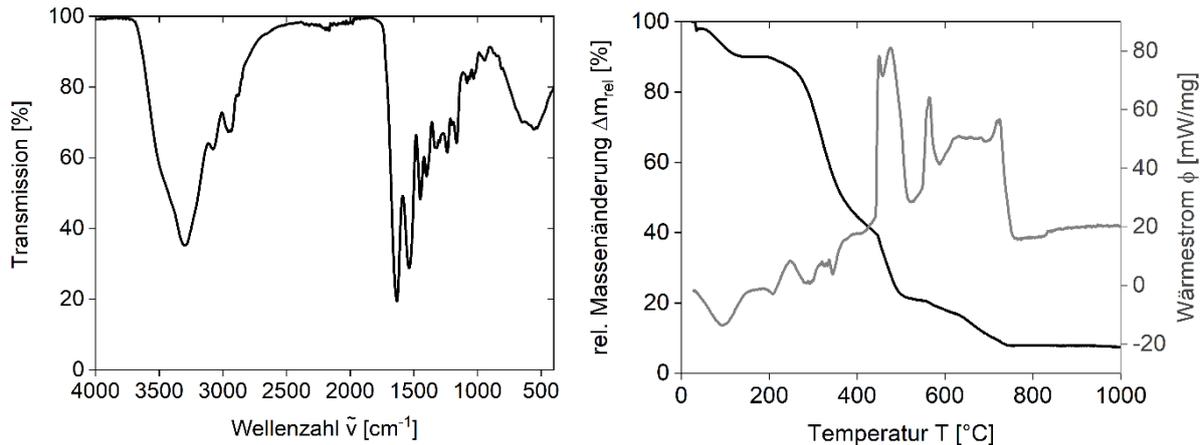


**Abbildung 4.4. 10:** Eigenes Foto vom 16.06.2021 der Hydrogelmembran photo B50 mit Beimengung von HAP.

#### 4.4.3 Gemischte Hydrogele mit methacrylierter Gelatine

Zur ersten Verbesserung der Biokompatibilität sollten gemischte Hydrogele synthetisiert werden. Dabei sollen die chemisch guten Eigenschaften des Sulfobetains und dessen gute Mineralisierbarkeit übernommen werden. Als biologische Komponente wurde methacrylierte Gelatine verwendet. Diese wurde in der Gruppe von Prof. Dr. Tovar von Lisa Rebers synthetisiert.<sup>245,246</sup>

Den Anfang dieses Teilprojektes stellte die zusätzliche Analytik der methacrylierten Gelatine dar. Strukturell erfolgte die Charakterisierung mittels FT-ATR-IR (Abbildung 4.4. 11 links).<sup>247-249</sup> Eine breite Bande bei  $3296\text{ cm}^{-1}$  und eine weniger intensive breite Bande bei  $3077\text{ cm}^{-1}$  ist der N-H- Streckschwingung zuzuordnen. Darin enthalten sind zudem Streckschwingungen von OH-Gruppen. Schwächere Banden bei  $2956$  und  $2879\text{ cm}^{-1}$  implizieren das Vorhandensein von  $\text{CH}_2$  Gruppen durch deren asym. bzw. sym. Schwingungen. Eine weitere Bande bei  $2879\text{ cm}^{-1}$  kann der C-H Streckschwingung zugeordnet werden. Die intensivste Bande bei  $1633\text{ cm}^{-1}$  ist der C=O Streckschwingung zuzuordnen. Sowohl Biegeschwingungen der C-N-H Gruppe bei  $1537\text{ cm}^{-1}$ , Biegeschwingungen der OH-Gruppe bei  $1400\text{ cm}^{-1}$ , asy. und sym Schwingungen der N-C=O Polypeptidgruppe als auch C-N Streckschwingungen bzw. N-H Biegeschwingungen bei  $1238$  und  $1164\text{ cm}^{-1}$  ergänzen das Spektrum. Im Bereich unter  $1100\text{ cm}^{-1}$ , also eindeutig im Fingerprintbereich, befinden sich Banden bei  $1082\text{ cm}^{-1}$ ,  $1031\text{ cm}^{-1}$ ,  $943\text{ cm}^{-1}$  und im Bereich  $640\text{-}530\text{ cm}^{-1}$ , welche den verschiedenen Gerütschwingungen der C-C-Bindung oder auch C-H Deformationsschwingungen zugehörig sind. Zusammengenommen decken sich diese genannten Banden mit den Hauptkomponenten Glycin, Prolin und Hydroxyprolin der Gelatine. Außerdem sind drei weitere Banden bei  $1297\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_2$  „*in-plane*“ Deformationsschwingung),  $1201\text{ cm}^{-1}$  (C-O-C Gerütschwingungen) und bei  $1062\text{ cm}^{-1}$  (eine C-O Streckschwingung des Esters) zu beobachten. Weitere Banden, die auf Doppelbindungen hindeuten, sind durch Banden im Bereich  $>3000\text{ cm}^{-1}$  überdeckt. Da diese das Vorhandensein eines Methacrylats bestätigen, kann davon ausgegangen werden, dass die Methacrylierung der Gelatine erfolgreich war.



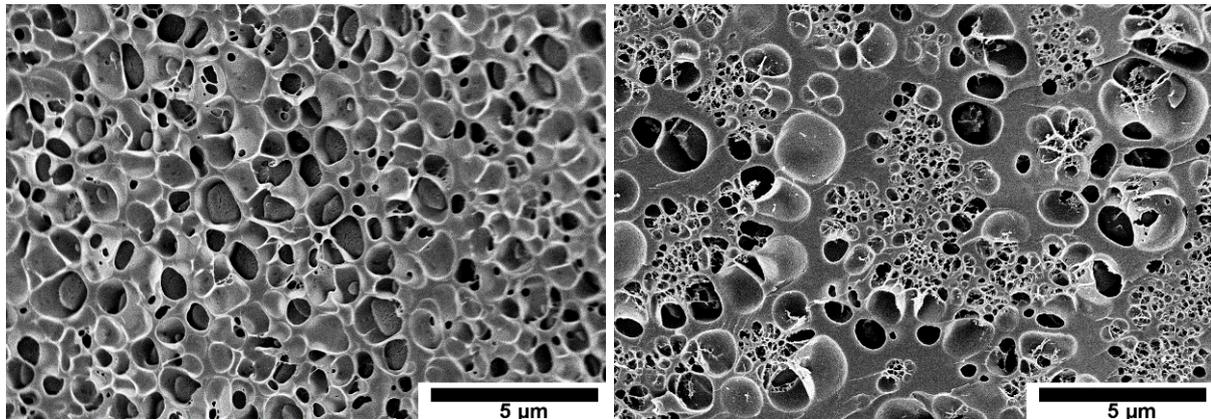
**Abbildung 4.4. 11:** FT-ATR-IR-Spektrum (links) und TGA-Verlauf (rechts) von der methacrylierten Gelatine.

Die Bestimmung der thermischen Stabilität erfolgte mittels TGA (Abbildung 4.4. 11 rechts). Demnach beginnt die erste Massenänderung von 8 % unterhalb von 100°C und endet bei ca. 130°C. Dies spricht für das Entweichen von verschieden gebundenem H<sub>2</sub>O. Dem schließt sich ein stufiger Zersetzungsprozess aus drei überlappenden Teilprozessen an. Von 200°C bis 440°C (ca. 50 %), 450-520°C (ca. 20 %) und 550-740°C (13 %) kommt es zur Zersetzung der Gelatine. Dabei werden die Polypeptidketten schrittweise in immer kleinere Einheiten gebrochen. Dem schließt sich ein Plateau mit einer Restmasse von 8 % an. Denkbar ist hier, da es sich bei Gelatine um ein Naturprodukt handelt, dass diese durch weitere Bestandteile wie z.B. Salze, verunreinigt wurde. Bezüglich der Restmasse ist keine weitere Einordnung möglich, da in den meisten Publikationen dies entweder unkommentiert bleibt<sup>250</sup> oder als Asche<sup>251</sup> vereinfacht dargestellt wird.

In Anlehnung an die Hydrogele mittels thermischer Initiierung wurden nun Hydrogele mit SPE und der methacrylierten Gelatine als chemischer Vernetzer über lichtinduzierte Polymerisation synthetisiert. Auch hier konnten Membranen mit vergleichbarer Abmessung im Vergleich zum photoB50 synthetisiert werden. Die reine methacrylierte Gelatine liefert unter identischen Bedingungen kein zusammenhängendes Gel. Somit kann angenommen werden, dass das SPE als Monomer bei der Polymerisation verwendet wurde.

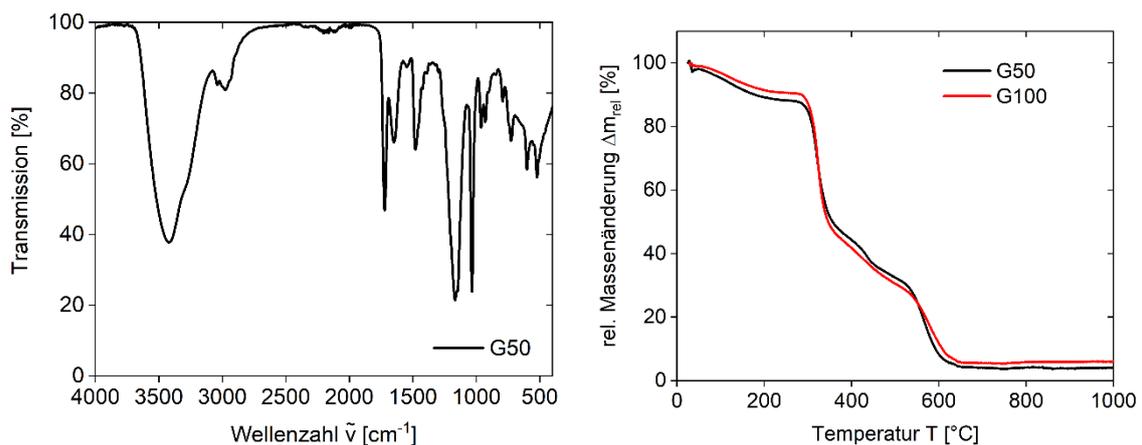
Die Netzwerkstruktur wurde auch in diesem Fall mittels Kryo-REM Aufnahmen (Abbildung 4.4. 12) verglichen. G100 setzt sich aus einem relativ homogen verteilten Porengeflecht mit einem Durchmesser von ca. 1 µm zusammen. Dieses ist den bereits beschriebenen Netzwerken der Proben B10, B50, B100 und photoB50 sehr ähnlich. G50 hingegen weist eine inhomogene Verteilung der Poren und deren Größe auf. Die kleineren Poren sind deutlich kleiner als 1 µm und mengenmäßig in der Überzahl, wohingegen die größten Poren bis zu 2,5 µm messen. Dieses Netzwerk lässt sich am ehesten mit dem

Netzwerk der Probe B10 vergleichen. Somit kann auch hier bestätigt werden, dass die Netzwerkstruktur vorrangig vom SPE beeinflusst wird.



**Abbildung 4.4. 12:** Analyse der Netzwerkstruktur von G100 (links) und G50 (rechts) mittels Kryo-REM.

Die Strukturanalytik mittels Elementaranalyse ist dem Kapitel 7.3 zu entnehmen. Ergänzend wurden FT-ATR-IR Spektren aufgenommen. Am Beispiel des G50 soll die Zuordnung erfolgen, da sich sowohl Bandenlage als auch Intensitätsverhältnisse der Hydrogele G50 und G100 nicht unterscheiden. Dieses Spektrum (Abbildung 4.4. 13 links) ist nahezu deckungsgleich mit dem Spektrum von photoB50 (vgl. Abbildung 4.4. 9). Lediglich eine zusätzliche Bande bei  $1547\text{ cm}^{-1}$  kann hier als signifikanter Unterschied angegeben werden. Diese ist der Biegeschwingung der C-N-H Gruppe zuzuordnen.<sup>247–249</sup> Somit kann davon ausgegangen werden, dass die Synthese des SPE Hydrogels mit methacrylierter Gelatine erfolgreich war.



**Abbildung 4.4. 13:** FT-ATR-IR-Spektrum von G50 (links) und TGA-Verläufe der gemischten Hydrogele G50 und G100 (rechts).

Auch im Hinblick auf das thermische Verhalten (Abbildung 4.4. 13 rechts) können keine signifikanten Unterschiede zwischen den Hydrogelen G50 und G100 festgestellt werden. In

diesen Fällen können ebenfalls mehrere stufenweise Masseveränderungen mit steigender Temperatur detektiert werden. Zunächst fällt die Masse um ca. 10 % im Temperaturbereich von 60-250°C ab. Dem schließen sich überlagernde Massenverluste mit unterschiedlichen Steigungen an, die nicht eindeutig durch ein Plateau voneinander trennbar sind. Der steilste Abfall ist im Bereich 270-360°C mit einem Massenverlust von 58 % (G50) bzw. 43 % (G100) detektiert worden. Im Bereich 360-530°C können zwei (G50) bzw. eine (G100) weitere Steigung beobachtet werden. Die letzte Massenänderung von ca. 25 % findet bei einer Temperatur von ca. 530-650°C statt. Das Plateau mit einer Restmasse von 4 % (G50) und 6 % (G100) erstreckt sich dann bis 1000°C. Beim Vergleich mit dem Hydrogel photoB50 ist lediglich eine leichte Verschiebung zu niedrigeren Temperaturen zu beobachten. Außerdem ist der erste Masseverlust unter 100°C nicht sauber vom sich anschließenden Masseverlust getrennt. Ansonsten ist der Verlauf übereinstimmend. Auch dies spricht dafür, dass die Gelatine als chemischer Vernetzer die grundlegenden thermischen Eigenschaften und das Netzwerk nicht signifikant verändert.

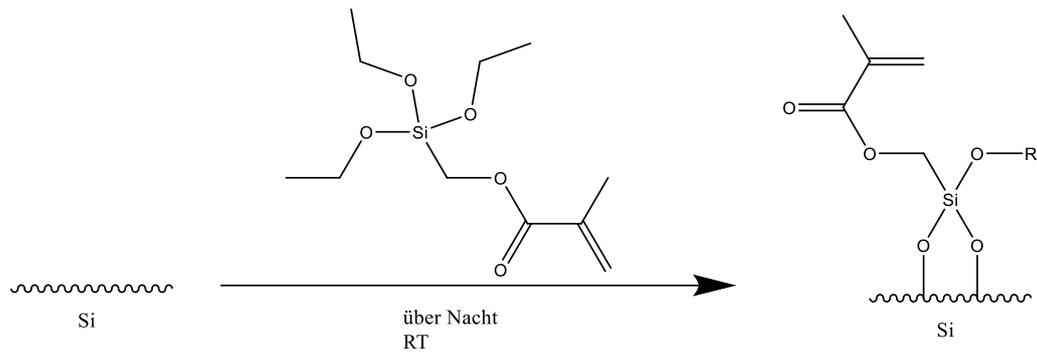
#### 4.4.4 Kombination von Hydrogelen mit der Schmelzschichtung

Die Hydrogele können nun zur Modifikation verschiedenster Oberflächen verwendet werden. Testweise wurde dies an geätzten und polierten Titan-Plättchen und 3D gedruckten PLA oder PP Strukturen durchgeführt. Prinzipiell konnte mittels Photopolymerisation eine Hydrogelschicht auf das Material aufgebracht werden (Abbildung 4.4. 14), jedoch ist keine stabile Verbindung zwischen den beiden Materialien möglich.



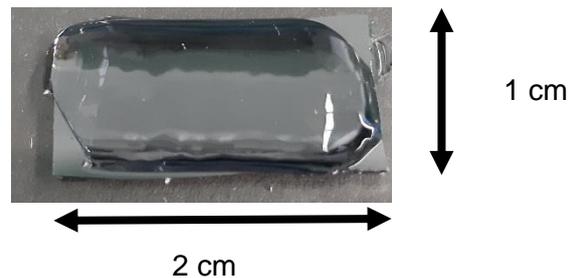
**Abbildung 4.4. 14:** Eigene Fotos vom 06.06.2016 und 29.09.2017 von betainbasierten Hydrogelen auf verschiedenen Oberflächen. Links – Titan mit dem Durchmesser von 1 cm; Rechts – 3D gedrucktes PLA mit dem Durchmesser von 1 cm.

Daher soll hier eine Methode vorgestellt werden, mit der eine chemische Bindung direkt an der Oberfläche zugänglich ist. Als Modelloberfläche diente hier ein Silizium - Wafer. Auf diese wurde eine methacrylierte Silanschicht (Abbildung 4.4. 15) gebracht, welche zur Photopolymerisation verwendet werden konnte.



**Abbildung 4.4. 15:** Übersichtsreaktionsschema zur Oberflächenmodifikation von Silizium-Wafern mittels methacryliertem Silan.

Dabei zeigte sich eine Veränderung des gemessenen Kontaktwinkels. Vor der Modifizierung konnte ein Kontaktwinkel mit  $33 \pm 3^\circ$  gemessen werden. Nach einer Behandlung von 24 h mit dem Silan ist eine Verdopplung auf  $70 \pm 3^\circ$  zu detektieren. Dies bedeutet eine Zunahme der Hydrophobizität. Somit kann angenommen werden, dass das Silan erfolgreich an den Wafer gebunden werden konnte. Das Hydrogel konnte daraufhin erfolgreich auf dem Si-Wafer polymerisiert werden (Abbildung 4.4. 16).



**Abbildung 4.4. 16:** Eigenes Foto vom 04.05.2021 des Si-Wafers ( $2 \cdot 1$  cm) photopolymerisiert mit SPE und TMBEMPA/Br.

Im Hinblick auf den Haftverbund konnten keine reproduzierbaren Ergebnisse ermittelt werden. So schienen sich die Hydrogel, welche mit oder ohne Silan an die Siliziumoberfläche polymerisiert wurden, nahezu identisch abzulösen. Erklärt werden kann dies über die verwendete Monolage des Silans an der Oberfläche. Diese ist nicht ausreichend, um das Hydrogel auf der Oberfläche zu stabilisieren. Folglich ist eine Reduzierung der Hydrogelschicht empfehlenswert.

#### 4.4.5 Direkter 3D Druck über diverse Verfahren

Die bisherigen Synthesansätze beschränkten sich eher auf Anwendungen im Labor. Damit eine großtechnische und automatisierte Herstellung realisiert werden kann, sollten hier erste Testlinien zum direkten 3D-Druck mittels Stereolithographie (SLA) und Multi-Jet Modeling (MJM) durchgeführt werden.

SLA funktioniert über eine Photopolymerisation bei zumeist 405 nm. Dabei taucht ein Druckbett von oben in einen mit Harz gefüllten Tank. Durch ein langsames nach oben bewegendes Druckbett und einem gleichzeitigen punktuellen Bestrahlen mit einem Laser können dann nahezu beliebige Formen in Abhängigkeit der Auflösungsgrenze generiert werden. Zunächst wurde daher der Ansatz aus Kapitel 4.4.2 verwendet. Auch hier musste lediglich der Initiator ausgetauscht werden. Hierfür wurde Ivocerin<sup>®</sup> verwendet, welcher lichtinduziert bei einer Wellenlänge von 405 nm in Germaniumradikale und Benzoylradikale zerfällt (vgl. Kapitel 2.2.2). So konnten in den Vortests stabile und makroskopisch homogene Hydrogele in einer Nachbelichtungskammer synthetisiert werden. Nachteilig ist lediglich die geringe Löslichkeit des Photoinitiator in H<sub>2</sub>O. Vielversprechende Ergebnisse konnten auch mit Beimengungen von HAP erzielt werden. Lediglich ein Lösungsmittelaustausch gegen ein org. LM, wie z.B. Acetonitril, Ethanol und Methanol, ist unter den angegebenen Bedingungen infolge von ungenügender Löslichkeit nicht möglich.

Die Übertragung auf den Drucker Formlabs 2 war jedoch nicht erfolgreich. Eine Haftung am Druckbett konnte nicht erzielt werden. Daher wurde das Prinzip des MJM verwendet. Hier werden über Düsen Vorläuferlösungen auf ein Druckbrett gegeben. Über vorwiegend UV-Licht erfolgt dann die Aushärtung. Somit können die Vorläuferlösungen, welche für den SLA Druck verwendet wurden, eingesetzt werden. Prinzipiell war dieser Ansatz erfolgreich und es konnte eine Aushärtung erzielt werden. Verbesserungswürdig ist jedoch die Aushärtezeit, die mit > 3 min deutlich zu hoch ist.

Bessere Ergebnisse konnten mit redoxinitiierten Systemen erzielt werden. Dazu wurden die Vorläuferlösung aus Kapitel 4.4.1 zur Synthese von Kryogelen verwendet. Als Prototyp wurden Doppelspritzen verwendet. Dabei enthält eine Spritzenkartusche das SPE, TMBEMPA/Br und TMEDA gelöst in H<sub>2</sub>O. In der anderen Kartusche wird KPDS in H<sub>2</sub>O gelöst. Im Mischrohr kommt es zur Durchmischung beider Lösungen. Die redoxinitiierte Polymerisation lässt das Material in der gewünschten Form aushärten. Nachteilig ist auch hier eine zu hohe Aushärtezeit. Die Auftragung von Prekursorlösungen mit bereits initialisierter Gelierung lieferte auch kein nachträglich kompaktes Netzwerk.

### 4.4.6 Synthese von Ionogelen

Vorrangig im Bereich der der Katalyse und der Verwendung als Polymergelelektrolyten als Energievorrichtung in Batterien, Solarzellen oder Brennstoffzellen finden Ionogele (IG) immer mehr Beachtung.<sup>252,253</sup> Darunter werden im Allgemeinen Systeme zusammengefasst, in denen in einer Matrix eine ionische Flüssigkeit (IL) immobilisiert wurde. ILs fasst dabei eine Stoffklasse von Salzen zusammen, die unterhalb von 100°C schmelzen.<sup>254</sup>

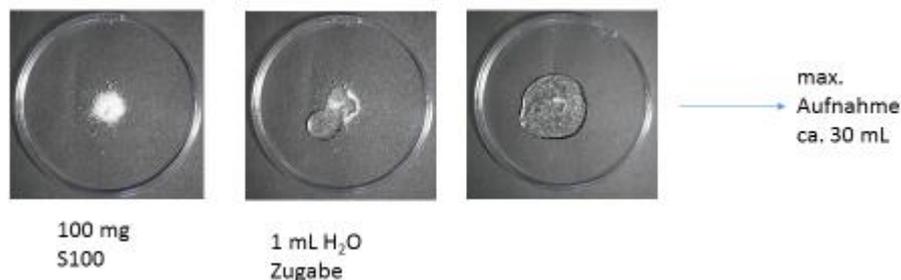
Testweise wurden Syntheseansätze durchgeführt, welche sulfobetainbasierte IG über Photopolymerisation zugänglich machen sollten. Zunächst wurde ein NiCl<sub>2</sub> als Modellsalz

verwendet. Dies ist als Anhydrat gelb und als Hexahydrat grün. Dieser Farbunterschied sollte als Sensor verwendet werden, um festzustellen ob H<sub>2</sub>O-Moleküle aus dem Xerogel-Salz-System entfernt werden konnte. Punktuell konnte eine leicht grünliche Verfärbung beobachtet werden. Somit ist eine vollständige Entfernung von H<sub>2</sub>O nicht zu dokumentieren. Auch die Verwendung von Trihexylammoniumsulfonat (hydrophob) lieferte keine stabilen Systeme, da eine Phasentrennung auftrat.

#### 4.4.7 Superabsorbierende Polymere (SAP)

Bereits in Kapitel 4.1.1 wurde erwähnt, dass das Hydrogel S100 bis auf einen Durchmesser von ca. 20 cm quellen kann. Daher soll anhand erster Testreihen die Eignung als superabsorbierendes Polymer (SAP) getestet werden. Hier zeigte sich, dass 100 mg des Xerogels ein Volumen von ca. 30 mL aufnehmen kann. Jedoch ist die resultierende Masse recht dünnflüssig. Im Vergleich dazu zeigen etablierte Systeme eine Aufnahmefähigkeit von bis zu 1000 mL pro 1g Polymer oder sogar 5 g Polymer.

Das T100, welches ein ähnliches Quellverhalten zeigt, konnte aufgrund der klebrigen Konsistenz der Xerogele nicht homogenisiert werden, weshalb auf weitere Tests verzichtet wurde.



**Abbildung 4.4. 17:** Eigene Fotos von S100 in Zusammenhang mit superabsorbierenden Polymeren. Gequollenes Hydrogel (links) und Reihenfolge des homogenisierten Xerogels nach Zugabe von 0 mL, 1 mL und 30 mL.

## 5. Literaturvergleich

In diesem Kapitel sollen die Ergebnisse aufgenommen und im Kontext der aktuellen Forschungslage eingeordnet und bewertet werden.

Den Anfang dieser Arbeit stellt die einstufige Synthese des Vernetzers TMBEMPA/Br da. Allgemeine Vorteile der Synthese sind der kurze und einfache Syntheseweg, kostengünstige Edukte und die Lagerstabilität auch bei RT. Klarer Nachteil ist die lichtempfindliche Eigenschaft, welche zur Polymerisation führen kann. Dies kann jedoch durch Lagerung in lichtgeschützten Behältern minimiert werden. Besonders erwähnenswert ist eine sehr gute Löslichkeit in Wasser von mehr als 1 g/mL. Dabei ist weder eine Phasenseparation noch Dispersion zu beobachten.

Generell ist eine komplette Gütebeurteilung nur begrenzt möglich, da der Vernetzer und dessen Eigenschaften in Forschungsarbeiten zumeist nachlässig behandelt wird. Klare Angaben fehlen in den meisten Fällen. Hypothetisch kann als Ursache für die fehlenden expliziten Löslichkeitsangaben die benötigten geringen Mengen zur Polymerisation angesehen werden, weshalb eine Betrachtung maximaler Löslichkeiten entfallen könnte. Zur vollständigen Charakterisierung und damit auch einer möglichen Verwendung in einem anderen Themenkomplex ist eine eindeutige Angabe jedoch wünschenswert.

Beispielhaft seien hier deswegen einige häufig verwendeten Vernetzer im biomedizinischen Bereich genannt. So ist z.B. Divinylbenzol (DVB) in der Kontaktlinsenforschung in Kombination mit 2-Hydroxyethylmethacrylat (HEMA) genannt.<sup>255</sup> Auch Ethylenglykoldimethacrylat (EGDMA) zeigt eine geringe Wasserlöslichkeit, weshalb es eher für die Polymerisation in org. Lösungsmitteln verwendet wird.<sup>256</sup> Weitere Methacrylate, wie Methacrylsäure-vinylester, werden ebenfalls eher in org. Lösungsmitteln verwendet.<sup>257</sup>

Direkt wasserlösliche Vernetzer, wie das Tetrallylpiperazinumdichlorid (TAP), werden seltener aufgeführt.<sup>258</sup> Auffällig ist hier die Verwendung von quartären Ammoniumverbindungen. Diese scheinen gute wasserlösliche Eigenschaften und eine relativ simple Syntheseroute zu besitzen, weshalb diese attraktiv für diverse Anwendungsgebiete sein könnten. Andere wasserlösliche Vernetzer sind z.B. N,N'-Methylenbisacrylamid (MBA), welcher im Kontext „*Drug Delivery*“ verwendet wird.<sup>259</sup>

Andere Konzepte beruhen eher auf der chemischen Vernetzung von Polymerketten. So beschrieben Chandel *et al.* Hydrogele auf Basis von Poly[2-(dimethylamino)ethyl methacrylat]-*b*-poly(*N*-isopropyl acrylamid), welche mit Chlor funktionalisiertem Polyethylenglykol umgesetzt wurden.<sup>260</sup> Dieses Konzept ist synthetisch jedoch weitaus aufwendiger. Grundlegend scheinen Forschungsschwerpunkte eher darauf zu beruhen vorhandene Vernetzer in anderen Monomerkombinationen und Konzentrationen zu

verwenden. Daher ist die Entwicklung neuer Vernetzer, wie in dieser Arbeit geschehen, eher ungewöhnlich.

Dieser chemische Vernetzer wird nun mit methacrylierten Monomeren über eine thermisch initiierte FRP umgesetzt. Zunächst wurde die chemische der rein physikalischen Vernetzung vorgezogen. Die physikalische Vernetzung ist anhand zahlreicher Beispiele bekannt dafür z.T. auch mechanisch stabile Netzwerke generieren zu können. Diese ist jedoch entweder zeitlich begrenzt oder erfordert ein bestimmtes Medium.<sup>261–263</sup> Aufgrund der eher Langzeitstabilität und der Toleranz gegenüber verschiedenen Medien, wurde sich daher auf die chemische Vernetzung beschränkt. Dabei ist anzumerken, dass durch die zwitterionischen bzw. polyelektrolytischen Eigenschaften und mögliche inter- und intramolekulare Wasserstoffbrücken ein gewisser Einfluss der physikalischen Vernetzung nicht zu ignorieren ist. Jedoch führt eine Homopolymerisation der Monomere nicht zu einer mechanisch stabilen Netzwerkbildung, wodurch belegt werden konnte, dass eine phy. Vernetzung für den priorisierten Anwendungsbereich mit diesem System nicht geeignet ist.

In der Literatur ist eine Vielzahl verschiedenster Hydrogelsysteme beschrieben. Im biomedizinischen Anwendungsbereich dominieren deutlich Netzwerke auf Basis von Biopolymeren. Prominente Vertreter sind hierbei Cellulose und dessen Derivate<sup>264</sup>, Chitosan bzw. Chitin und Gelatine<sup>68,265</sup>. Gemeinsam haben diese Materialien die hohe Biokompatibilität, jedoch ist die Synthese aufwendig und kostspielig. Demgegenüber steht nun diese Arbeit, welche es schafft über einen geringen synthetischen Aufwand und lediglich 20 min Gele in allerlei Formen zu generieren. Trotz der rein chemischen Struktur des Hydrogels kann eine grundlegende Biokompatibilität gewährleistet werden.

Aus der Natur adaptierte Systeme beruhen i.d.R. auf Polymeren. Aufgrund der Komplexität der Hydrogelforschung wurde sich im Folgenden auf zwitterionische bzw. sulfobetainbasierte Systeme begrenzt. Polyelektrolyte sowie zwitterionische Systeme zeichnen sich durch ihre besonderen Eigenschaften aus (vgl. Kapitel 2.2.4).<sup>153,266</sup> Bian *et al.* zeigen dabei am Beispiel der Membran zur osmotischen Stromerzeugung<sup>267</sup> und Ishihara *et al.* am Beispiel der Polyelektrolytkomplexe von Biopolymeren zur biomedizinischen Anwendung<sup>268</sup> die Diversität dieser Materialien. Sulfobetaine<sup>76,269–271</sup> im Allgemeinen zeigen sowohl antibakterielle<sup>272</sup>, „antifouling“<sup>273,274</sup> und verschiedenste kritische Löslichkeitstemperaturen, welche als potentielle interessante Eigenschaften in die neuen Hydrogele übernommen werden sollten. Die antibakterielle Wirkung der neuen Materialien konnte in ersten Experimenten nicht bestätigt werden. Zudem ist fraglich, ob eine solche Eigenschaft direkt gegeben ist oder diese lediglich auf den „antifouling“ Effekt zurückzuführen ist. In der Literatur sind der Autorin dieser Arbeit zum Teil widersprüchliche Aussagen bekannt. Die „antifouling“ Wirkung ist nicht Gegenstand dieser Arbeit gewesen. In der Literatur sind aber diesbezügliche Arbeiten beschrieben.<sup>275</sup>

Es konnte aber nachgewiesen werden, dass eine zeitlich bzw. temperaturbegrenzte obere kritische Lösungstemperatur (UCST) vorliegt. Eine UCST ist bei zwitterionischen Polymeren<sup>276–278</sup> und eine untere kritische Lösungstemperatur (LCST)<sup>279</sup> bei ungeladenen Polymeren in wässriger Lösung beschrieben. Jedoch ist es möglich, auch für sulfobetainische Systeme LCST und UCST in Abhängigkeit der Polymerstruktur zu beschreiben. So zeigten Lewoczko *et al.* eine Abhängigkeit des Substituenten am quartären Stickstoff von der Löslichkeitstemperatur. Alkylketten zeigten ein LCST Verhalten, wohingegen Benzolringe ein UCST zeigten.<sup>280</sup> Vishnevetskaya *et al.* konnten durch Copolymerisation eines sulfobetainischen Polymers mit einem ungeladenen Poly(N-isopropylacrylamid) (PNIPAM) eine Kombination von LCST und UCST erreichen, was als „schizophrenisches Verhalten“ beschrieben wird.<sup>281</sup> Dies lässt die Hypothese zu, dass der geringere Anteil des polyelektrolytischen Vernetzers und die sulfobetainischen Funktionalität gegenüber dem neutralen Rückgrat des B100s dominiert, weshalb eher eine UCST zu finden ist. Die in Dissertation beschriebene Beeinflussung gemäß Hofmeister Serie ist auch für andere Systeme nicht unüblich.<sup>282</sup>

Generell kann über die Synthese der neuen Materialien gesagt werden, dass diese entsprechend der formulierten Leitfragen dieser Dissertation so einfach wie möglich gehalten und direkt in H<sub>2</sub>O durchgeführt wurde. Dies stellt einen klaren Vorteil gegenüber Systemen in org. Lösemitteln da. Hier muss zunächst ein langwieriger Lösungsmittelaustausch erfolgen. Die erreichte Formvariabilität stellt keine signifikante Verbesserung im Vergleich zur Literatur da. Diese ist hinreichend bekannt.

Die Abmessungen der Hydrogele B10, B50 und B100 widersprechen zunächst der gängigen Lehrbuchtheorie. Diese besagt sinngemäß, dass Netzwerke mit geringerem Vernetzeranteil (hier: B100) stärker quellen als Netzwerke mit höherem Anteil (hier: B10). Das Gegenteil ist hier der Fall. Begründet werden kann dies über die elektrostatischen Wechselwirkungen im System in Kombination mit der Netzwerkbeschaffenheit. An dieser Stelle wird zum ersten Mal impliziert, dass das Netzwerk des B10s deutlich weitmaschiger ist als im B50 und B100. Ein engmaschiges Netzwerk begünstigt inter- und intramolekulare WW., weshalb eine Quellung nicht begünstigt wird. Im großmaschigeren B10 sind die Ladungen weiter verteilt, was zu einer Quellung führt. Zudem ist dies auch ein erster Hinweis auf ein eher inhomogenes System.

Über die Gelierung kann an dieser Stelle wenig gesagt werden, da keine direkte Abhängigkeit vom Vernetzeranteil noch vom Monomer vorliegt. Auch liegt die ermittelte Zeit in einem recht niedrigen Sektor. In der Literatur sind vorrangig Zeiten von wenigen Sekunden bis zu einer Stunde beschrieben.<sup>283,284</sup> Lediglich die deutlich verlängerte Gelierungszeit des TMAEMAs kann nicht nur mittels repulsiver WW. und veränderter Elektronendichte begründet werden (vgl. Kapitel 4.1.1). Vielmehr zeigt die Arbeit von Hemp *et al.* bezüglich

ammoniumbasierter ionischer Flüssigkeiten eine thermisch induzierte Spaltung über eine Hoffmann Eliminierung oder nucleophile Substitution in Gegenwart von  $\text{Cl}^-$  Ionen.<sup>214</sup> Hypothetisch kann dadurch auch die gelbe Verfärbung des Hydrogels T10 erklärt werden.

Eine weitere Abgrenzung zur Literatur stellt die Aufarbeitung und Reinigung dieser Hydrogele dar. Beschrieben sind zumeist aufwendige und zeitintensive Dialyseverfahren<sup>285,286</sup> besonders für Hydrogele basierend auf Naturstoffen oder Quell/Schrumpf Zyklen in Säuren oder Basen<sup>215</sup>. Auf diese Prozedur wurde in dieser Arbeit verzichtet. Grund hierfür ist die säure- bzw. baseninduzierte Esterspaltung. Um jedoch die bestmögliche Aufreinigung erreichen zu können, wurden größere geladene Farbstoffe verwendet, um die Waschzyklen mit Reinstwasser abschätzen zu können. Zudem sind die durchgeführten Extraktionsexperimente mit verschiedenen Zelltypen als Beweis anzusehen, dass keine schädliche Menge Monomer im Hydrogel erhalten bleibt.

Um diese Eigenschaften verstehen und erläutern zu können wurde das Netzwerk im Gleichgewichtsquellzustand analysiert. Dies stellt, wie eingangs erwähnt, eine starke Einschränkung der zur Verfügung stehenden Methoden dar, jedoch sollten die Ergebnisse eher dem Ist-Zustand entsprechen, da eine vorherige Überführung zum Xerogel und damit veränderte Netzwerkstrukturen ausgeschlossen werden kann.

Als erstes wurden thermische Eigenschaften mittels TGA bestimmt. Hier liegt die erste Zersetzungstemperatur von 250-300 °C im Bereich der literaturbekannten Werte sowohl für Monomere als auch Hydrogele.<sup>56</sup> Diese ist grundlegend durch die Struktur der Monomere vorgegeben und daher nicht weiter veränderbar. Auch die gefundene Gefrierpunktserniedrigung mittels DSC ist hinlänglich bekannt. So zeigen Arbeiten von Morelle *et al.*<sup>287</sup> oder auch Li *et al.*<sup>288</sup> Netzwerke eine Herabsetzung auf -8°C bzw. -12,6°C.

Mechanischen Eigenschaften variieren je nach verwendetem System stark. Besonders im Bereich der Knochen, welche für diese Arbeit als Grundlage dienen, sind in der Literatur verschiedene Angaben bezüglich des Young Modulus zu finden. Begründet werden kann dies wiederum mit der fehlenden vollständigen Strukturaufklärung. Rho *et al.* fast dabei die Messwerte aus den 70er bis 90er Jahren zusammen. Der Messwert variiert hierbei erwartungsgemäß je nach verwendeter Deformationsmethode und Knochenursprung zwischen 0,76 – 20 GPa.<sup>289</sup> Weiner *et al.* differenzierten in unterschiedliche hierarchische Level der Knochen. Die Werte liegen aber in einem ähnlichen Bereich, obwohl auch höhere Werte von bis zu ca. 50 GPa angesprochen werden.<sup>290</sup> Reine Kollagenfibrillen werden mit 5 - 11,5 GPa<sup>291</sup> beschrieben und reines HAP mit 114 GPa<sup>290</sup>. Synthetische hergestellte Kollagen/HAP Komposite erreichen Werte von 9-16 GPa.<sup>292</sup> Adamski *et al.* beschrieben entlehnte Komposite auf Basis von Chitosan/HAP und Silika mit 5,2-100 MPa.<sup>293</sup> Somit liegen die in dieser Arbeit entwickelten Hydrogele mit 2000-4900 Pa deutlich unter den angestrebten Werten. Dabei ist aber zunächst anzumerken, dass das hier ermittelte  $G'$  nicht

uneingeschränkt mit dem Young Modulus vergleichbar ist und dies nur als Orientierungshilfe dient. Außerdem wurden nur die unmineralisierte Netzwerke im Gleichgewichtsquellzustand vermessen. Mech. Eigenschaften werden trocken aufgenommen, weshalb auch hier die Vergleichbarkeit eingeschränkt ist. Doch zusammenfassend sind die Systeme im GG.-Quellzustand deutlich weicher.

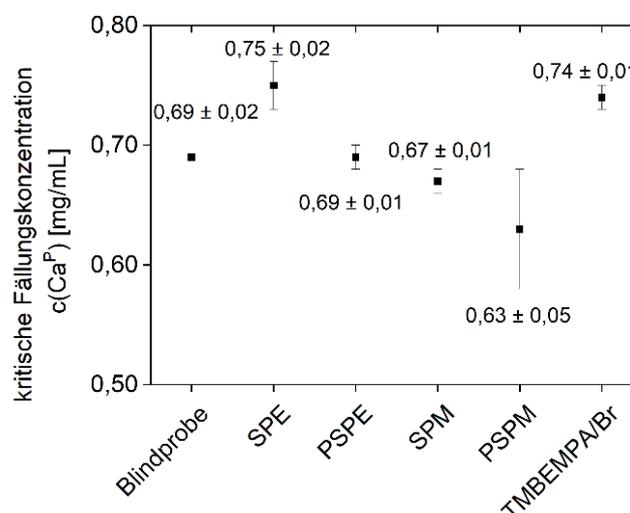
Die Netzwerkstruktur wurde sowohl mittels lichtmikroskopischer Ausnahmen als auch Kryo-REM näher untersucht. Hier zeigten sich mindestens zwei Strukturen unterschiedlicher Größenordnung und eine teilweise vorhandene Inhomogenität. Das feine Netzwerk im Nanometerbereich ist vergleichbar mit dokumentierten Gelatine-<sup>294</sup> oder Kollagenanalogennetzwerken.<sup>295</sup> Bertz *et al.* zeigten, dass auch mit modifizierter Stärke und PEG Derivaten nicht nur reine Naturstoffhydrogele solche Strukturen generieren.<sup>27</sup> Auch für vollständig synthetische Netzwerke basierend auf Polyacrylamid (PAAm) und Poly(2-hydroxyethylacrylat) (PHEA) beschrieben Beisebekov *et al.* ähnliche Strukturen.<sup>296</sup> Preller *et al.* bestätigten für Polyvinylalkohol basierte Systeme, welche mit Borax vernetzt wurden, diese Netzwerkstrukturen.<sup>297</sup> So kann wiederum belegt werden, dass ein rein chemisch aufgebautes Netzwerk ähnliche Strukturen generiert und die entwickelten Systeme damit der Literatur folgen. Hingegen sind die in dieser Arbeit beschriebenen „Poren in Poren“ Strukturen nach Wissen der Autorin nicht beschrieben oder nicht zu finden. Somit stellt dies eine Neuentwicklung da, besonders weil für zwitterionische Hydrogele solche Strukturen nicht beschrieben sind.

Die beschriebene Inhomogenität in Netzwerken und die damit verbundenen Eigenschaftsvariationen allerdings sind immer wieder im Zentrum von verschiedenen Studien.<sup>298–301</sup> Grundsätzlich ist eine Inhomogenität jedoch auch in der Natur weit verbreitet und für die entsprechende Funktion so entwickelt. Beispielhaft soll hier auf die Zellstruktur im Baumstamm hingewiesen werden. Diese weist keine vollständige Homogenität auf, erfüllt aber im gesamten Zellverbund die entsprechenden Aufgaben.<sup>302</sup>

Eine Methode zur Quantifizierung der Inhomogenität und der Netzwerkstruktur ist SAXS.<sup>303–305</sup> So beschrieben Matsunaga *et al.* Korrelationslängen von 1-10 nm in Tetra-PEG Gelen mittels Neutronenkleinwinkelstreuung (SANS).<sup>306</sup> Dies ist vergleichbar mit den in dieser Arbeit ermittelten Werte. In der Literatur sind zudem mathematische Methoden aufgeführt, welche die Maschenweite aus rheologischen Messungen berechnet. Da diese Methode nicht für inhomogene und makroporöse Materialien geeignet ist, wurde darauf verzichtet.<sup>307</sup> Dies trifft auch auf die Korrelation von Maschenweiten mit Quelleigenschaften zu.<sup>308,309</sup> Hier sind detaillierte Information über die Wiederholeinheiten im Netzwerk und Angaben zum Wasseranteil erforderlich, welche in einem bimolekularen Netzwerk nur fehlerbehaftet aufzuführen ist.<sup>307</sup>

Eine weitere Methode in dieser Dissertation ist die Niederfeld-NMR an Netzwerken. In der Literatur sind diverse Anwendungsgebiete beschrieben. Papon *et al.* analysierten beispielsweise die Dynamik einer polymeren Matrix mit Silka-Partikel. Auch die Analytik der Glasübergangstemperatur  $T_G$  stand dabei im Fokus.<sup>310</sup> Wittmer *et al.* befassten sich mit „selfhealing“-Effekten und dessen Kinetik in Polyurethan-Urea Polymeren.<sup>311</sup> Diese Beispiele illustrieren die breiten Verwendungsmöglichkeiten dieser Methode. In dieser Dissertation wurde die Bestimmung von nicht-elastischen Defekten (lose Kettenenden) und Vernetzungsdichten in Form der residualen dipolaren Kopplungskonstanten gezeigt. Die Auswertung in Bezug auf lange Seitenketten wurde neu aufgeführt und stellt damit die Weiterentwicklung der Arbeit von Wu *et al.* dar.<sup>225</sup>

Die entwickelten sulfobetainbasierten Hydrogele sollten nun in Bezug auf die Eignung zur Matrix gesteuerten Mineralisation von CaP untersucht werden. Zunächst erfolgte dabei die Analytik in Lösung. Der Einfluss verschiedener Additive in Lösung auf die Mineralisation wurde dabei in der Literatur hinreichend analysiert.<sup>83,121</sup> Eine Methode zur Quantifizierung ist die Bestimmung der kritischen Calciumbildungskonzentration mittels Trübungsphotometrie. Dabei handelt es sich um eine etablierte Methode der Arbeitsgruppe. Daher wurden die Messungen analog zum beschriebenen experimentellen Protokoll durchgeführt und ausgewertet. Somit ist ein Vergleich des Einflusses der Monomere bzw. Polymere möglich (vgl. Abbildung 5. 1).



**Abbildung 5. 1:** Kritische Fällungskonzentration bestimmt mittels Trübungstitration von 2SBF und  $\text{CaCl}_2$  (aq) ohne Monomierzusatz (Blindprobe) und mit Monomeren (SPE und SPM) und Vernetzer (TMBEMPA/Br). Bei PSPE und PSPM handelt es sich um Literaturwerte in Anlehnung an Mai *et al.*<sup>82,84</sup>

Es ist kein signifikanter Unterschied zwischen den verwendeten Additiven erkennbar. Grundsätzlich ist diese Methode zudem bedenklich. Generell wurde mittels UV-Vis Spektroskopie eine Trübungsphotometrie nachgestellt. Dies wurde durch Rühren der Niederschlagslösung und sofortiges Aufnehmen der Spektren erreicht. Hier ist fraglich, warum

gesamte Spektren von 600-100 nm aufgenommen wurden und nicht nur Teilspektren, wenn nur eine Wellenlänge zur Auswertung verwendet werden soll. Zudem steigt die Messzeit, wodurch nicht uneingeschränkt von einer getrübbten Lösung ausgegangen werden kann. Niederschlag könnte sich so schon am Küvettenboden außerhalb des detektierbaren Bereichs befinden und damit die Messwerte verfälschen. Die Wellenlänge zur Auswertung wurde quasi willkürlich im Plateau gewählt. Auswertungen bei anderen Wellenlängen zeigen zwar einen recht analogen Trend, die Zahlenwerte sind jedoch komplett verschieden. Daher dürfen die aufgeführten Konzentrationswerte nicht als Absolutwerte angesehen werden.

Die ermittelten Konzentrationen liegen bei einem Wert  $< 1$  mg. Bei einem Unterschied zwischen den Additiven von 0,05 mg und eine berechnete Standardabweichung von 0,01 bis 0,05 mg einen Einflussfaktor bestimmen zu wollen ist fraglich. Zudem wurde von Mai *et al.* drei Dezimalstellen angegeben. Worauf in dieser Dissertation verzichtet wurde, da dies unter den gewählten experimentellen Bedingungen und verwendeten Geräten keine signifikante Stelle sein kann. Beispielsweise wurde zur Einwaage Geräte mit einem größeren Gerätefehler verwendet.

Außerdem ist die Verwendung eines sigmoidalen Boltzmann Fits zur Auswertung der Titrationskurven nicht eindeutig physikalisch erklärbar. Die Gleichung passt zwar mit den Messergebnissen empirisch überein, jedoch ist die Eignung nicht belegt. Die Boltzmann Gleichung wurden generell aus dem kinetischen Ansatz von Maxwell entwickelt. Zusätzlich müssen Sigmoidfunktionen reelle, beschränkte und differenzierbare Funktionen sein, dessen 1. Ableitung durchgängig ein Vorzeichen aufweisen muss. Zudem ist genau ein Wendepunkt vorhanden. Da die betrachteten Titrationskurven diese Anforderungen erfüllen, scheint die Verwendung des Boltzmann Fits berechtigt. Ein Beweis kann nicht gefunden werden. Zusammenfassend kann also für diesen Teilaspekt dieser Dissertation gesagt werden, dass dies nur aufgrund von Vergleichbarkeit auf diesem Wege durchgeführt wurde. Die Additive haben gemäß den Ergebnissen keinen Einfluss auf die kritische Fällungskonzentration.

Auch morphologisch konnten innerhalb dieser Dissertation keine Besonderheiten im Vergleich zu den im Kapitel 2.1.1 beschriebenen Morphologie und Mineralisationsbedingungen für DCPD und HAP festgestellt werden. Der pH-Wertverlauf während einer Mineralisation kann für Rückschlüsse auf den Mineralisationsprozess genutzt werden. So beschrieben Shkilnyy *et al.* unter anderem die Umwandlung von DCPD zu HAP anhand des pH-Wertes. Dies ist über zwei unterschiedliche Mechanismen zu erreichen.<sup>312</sup> Der eine Weg kann nahezu ausgeschlossen werden, da eine Protonierung des Netzwerks erfolgen müsste. Eher denkbar ist die zweite Möglichkeit, bei der das Proton freigesetzt wird. Anhand des sinkenden pH-Wertes während der Mineralisation kann diese Hypothese bestätigt werden.

Auch die Matrix kontrollierte Mineralisation von Calciumphosphaten ist in der Literatur konzeptionell weit verbreitet. Bekannte offene Fragestellungen sind hierbei die Tiefenmineralisation in einem 3D-Objekt und damit auch die geringen anorg. Anteile im Hybridmaterial. Hier konnte mit dieser Dissertation diese Aspekte lediglich bestätigt werden.

Gemäß LaMer ist eine hohe Übersättigung notwendig um kleinere Nanopartikel zu erzeugen (vgl. Kapitel 2.1.3). Dieses Prinzip wurde versucht anzuwenden, um eine Mineralisation im Gelinneren zu provozieren. Zwar konnte der anorg. Anteil erhöht werden, jedoch nicht im angestrebten Maß aufgrund einer Verfünffachung der Konzentration. Da eine Reduktion der Konzentration in der vorangegangenen Masterarbeit ebenfalls keinen Erfolg erzielte, wurde darauf verzichtet. Eine Erhöhung der Temperatur während der Mineralisation resultiert nicht in einem erhöhten anorg. Anteil aufgrund verstärkter Brownschen Molekularbewegung. Es resultiert aber in einer Vergrößerung des Durchmessers und damit dem größeren Quellverhältnis (Verhältnis nass/trocken). Temperaturabhängige Quell- bzw. Schrumpfprozesse sind für sulfobetainische Systeme bekannt. So beschrieben Georgiev *et al.* eine Erhöhung des Quellverhältnisses mit erhöhter Temperatur in einem PDMAPS System.<sup>313</sup> Huglin *et al.* hingegen sprachen von temperaturabhängigem Schrumpf.<sup>314</sup> Der Unterschied in beiden Studien liegt im betrachteten System. Huglin *et al.*<sup>314</sup> beschäftigten sich im Unterschied zu Georgiev *et al.*<sup>313</sup> mit einem System aus Sulfobetain und PEG. Möglicherweise ist dies eine Erklärung für gegenläufige Ergebnisse. Nichtsdestotrotz konnte eine Temperaturabhängigkeit auch für die Hydrogele B10, B50 und B100 festgestellt werden. Unterstützt wird dies durch den Antipolyelektrolyteffekt. Diese ionenabhängigen Quellprozesse sind ebenfalls bekannt.<sup>314</sup>

Als weitere Mineralisationsstrategie ist die doppelte Diffusion weitverbreitet.<sup>315–321</sup> In der vorangegangenen Masterarbeit wurde die Tauglichkeit dieses Systems bereits bestätigt.<sup>211</sup> Darin wurden Liesegang'sche Ringe beschrieben, welche sich durch lokale Konzentrationsgradienten infolge einer Mineralisation bilden. Diese sind in der Literatur bekannt.<sup>322</sup> Aufgrund der weiten Verbreitung dieser Mineralisationsmethode wurde daher in dieser Arbeit die Mineralisation im elektrischen Feld verwendet, welche nach einem analogen Grundprinzip abläuft. Dies ist vorrangig für Systeme auf Basis von Naturpolymeren<sup>323,324</sup>, z.B. Agarose<sup>325,326</sup> beschrieben. Lediglich zwei Beispiele, Polyacrylamid<sup>325</sup> und PolyHEMA<sup>327</sup>, konnten gefunden werden. Daher stellt dies, nach Wissen der Autorin, eine der ersten Prüfungen mit einem vollständig syn. Hydrogel dar.

Im Bereich der Hybridmaterialien basierend auf Hydrogelen und Calciumcarbonat sind ebenfalls eine Vielzahl von Systemen bekannt.<sup>328</sup> Dabei ist die chem. Struktur der org. Komponente i.d.R. vergleichbar mit der für Hybridmaterialien auf Calciumphosphatbasis. Auch der mögliche Einfluss von Polyelektrolyten in Lösung ist beschrieben.<sup>329</sup> Generell konnte hier keine direkte Abhängigkeit vom gebildeten Calciumcarbonat vom Netzwerk erkannt werden. In der vorangegangenen Masterarbeit wurde zudem bereits die Mineralisation durch

Gasdiffusion beschrieben, jedoch reichte die Stabilität der Hydrogele im Trockenen für diese Methode nicht aus.<sup>211</sup> Daher wurde in dieser Arbeit auf ergänzende Messungen verzichtet, obwohl diese Methode zumindest für feste Substrate oder in Lösung Anwendung findet.<sup>330,331</sup>

Es folgte die biologische Bewertung der Hydrogele der B-Reihe. Als Vorbetrachtung wurde das Verhalten in verschiedenen Lösungen und Färbemitteln analysiert. Hier bestätigt sich wiederum die zwitterionische Struktur des Netzwerks. Zellmedien mit Ionen (PBS) dienen der Ladungskompensation und damit dem Quellen, wohingegen Lösungen mit geringerem/keinem Anteil an Ionen (Ethanol, DMEM) zum Schrumpfen führen. Zudem konnte die Eignung von Ethanol zur Sterilisation getestet werden. Die Sterilisation stellt bei Hydrogelen für die biomedizinische Anwendung ein großes Aufgabengebiet da. Es sind eine Vielzahl physikalischer und chemischer Methoden bekannt. Galante *et al.* verwiesen in ihrem Review auf materialabhängige Experimente, da eine Vorhersage bezüglich der Eignung einer dieser Methoden in den meisten Fällen scheitert.<sup>332</sup> Dies wurde nun auch für die Hydrogele der B-Reihe durchgeführt. Physikalische Methoden unter Einfluss von Hitze scheitern teilweise, da eine kritische Löslichkeitstemperatur vorliegt, welche das Netzwerk ändert. Außerdem wird von deutlich höheren Temperaturen (> 250°C) berichtet. Dies liegt für die betrachteten Systeme bereits im Bereich der ersten Zersetzung, daher eignet sich diese Methode eher für hitzestabile Systeme, wie z.B. Silikone. Chemische Sterilisationsmethoden beruhen auf dem Prinzip der erhöhten Konzentration einer für Organismen tödlichen Chemikalie. Auch diese Methoden sind i.d.R. sehr aggressiv. Dies wird innerhalb dieser Dissertation am Beispiel des Ethanols und dessen Einfluss auf die Netzwerkstabilität bestätigt. Andere häufig verwendete Methoden mit Ethylenoxid, Plasma oder Ozon sind ebenfalls genannt. Für die B-Reihe ist die physikalische Sterilisation mit UV-Licht am geeignetsten. Hier bestätigt sich die geringe Eindringtiefe, weshalb beide Seiten des Hydrogels belichtet wurden.

Als nächstes erfolgte die Analyse von selektiver Peptidadsorption an der Oberfläche des B10s mittels Phage Display. In der Literatur sind eine Vielzahl von Adsorptionsversuchen beschrieben. Diese sind jedoch i.d.R. auf spezielle Peptide beschränkt, welche dem spezifischen Anwendungsgebiet angelehnt sind. So zeigten Schönemann *et al.* den „antifouling“ Effekt von Sulfobetain-Filmen.<sup>273</sup> Weiterführende Studien befassten sich vor allem mit der Interaktion von Peptidsequenzen mit Polymersystemen, häufig Filmen. Dabei stehen hydrophobe Systeme im Mittelpunkt der Betrachtungen. Zu nennen wären hier Polydimethylsiloxan (PDMS)<sup>333</sup>, Polyetherimid (PEI)<sup>334</sup>, Poly(L-lactid) (PLLA)<sup>335</sup>, Polymethylmethacrylat (PMMA)<sup>336</sup>, Polypropylen (PP)<sup>337</sup> oder auch Polystyrol (PS)-Polyvinylchlorid (PVC) Systeme<sup>338</sup>. Dabei ist anzumerken, dass keine allgemeine Peptidsequenz identifiziert werden konnten. Tendenziell sind jedoch mehr aromatische und hydrophobe AS enthalten. Daneben wurden hydrophile Polymersysteme deutlich geringer betrachtet. Im Gegensatz zu den Studien mit hydrophoben Systemen konnten hier jedoch

klare Peptidsequenzen festgehalten werden. In der Studie von Serizawa *et al.* konnte so gezeigt werden, dass DFNPYLGVTPVL stark an ungeladene Polypropylenoxid (PPO) bindet.<sup>339</sup> HNAYWHWPPSMT bindet laut Ejima *et al.* an Poly(2-methoxy-5-propyloxysulfonat-1,4-phenylenevinyle).<sup>340</sup> Als hypothetische Ursache werden  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen des Triptophans angegeben. Diese sollen auch die Bindung zu anderen geladenen Polyanopartikeln begünstigen. Suzuki *et al.* postulieren für die Bindung an PNIPAM die positive elektrostatische Ladung der Peptide.<sup>341</sup> Jedoch sind dies Beispiele für die Bindung an Polymeren vorrangig Polymerfilmen. Lediglich Serizawa *et al.* beschäftigten sich mit der selektiven Peptidbindung an Poly(propylenoxid) basierten Hydrogelen.<sup>339</sup> Im Gegensatz zu dieser Dissertation wurde an dieser Stelle aber eine Peptidsequenz zur kontrollierten Freilassung von Peptiden gesucht und keine dauerhafte Bindung. Somit ist nach dem Wissen der Autorin die selektive Bindung von Peptidsequenzen an einer Hydrogeloberfläche eines zwitterionischen Hydrogels in der Literatur nicht dokumentiert. Daher stellt diese Studie eine Erweiterung der bisherigen Studien zu geladenen Polymeren aber auch Hydrogelen dar.

In Anlehnung an den bereits formulierten Widerspruch bezüglich bakterien- bzw. biofilminhibierenden Eigenschaften, wurden Testmessungen zur Interaktion der Monomere in Lösung mit den Bakterien *S.aureus* und *E.coli* durchgeführt. *S.aureus* wurde als grampositives Bakterium ausgewählt. Es ist für eine Vielzahl von humanen Infektionskrankheiten verantwortlich.<sup>342,343</sup> Auch *E. coli* als gramnegative Bakterien zählen zu den Pathogenen. Ward *et al.* zeigten anhand von Copolymeren auf Sulfobetainbasis die antibakterielle Wirkung.<sup>272</sup> Dies konnte ab einer Konzentration von 10 mg/L auch für die in dieser Arbeit verwendeten Monomere bestätigt werden. Das TMEMA erreichte einen Einfluss auf *E. coli* bereits ab 1 mg/mL. Die negative Ladung der gramnegativen Bakterien und die damit verbundene Adsorptionsmöglichkeit von Ionen ist bekannt.<sup>344</sup> Anhand des literaturbekannten Selektivnährboden CNA-Blutagar, welches die Anreicherung von gramnegativen Bakterien gegenüber grampositiven Spezies hemmt, kann die geringe antibakterielle Wirkung bestätigt werden. Hier werden Hemmstoffe im Bereich von 10 mg/L verwendet. Somit zeigen die Monomere nur einen sehr geringen Einfluss auf das Bakterienwachstum.

Als Beispiele für spezialisierte Stammzellen wurden zunächst Fibroblasten verwendet. Diese wurden gewählt, da diese die extrazelluläre Matrix (ECM) durch Kollagen und Proteoglykanen aufbauen. Außerdem ist die Verwendung von Hydrogelen als Modellsystem weit verbreitet.<sup>345</sup> Smithmyer *et al.* fassten dies am Beispiel von Studien zur Wundheilung zusammen.<sup>346</sup> Dabei werden hauptsächlich Naturpolymere und Derivate aufgeführt. Synthetische Hydrogele sind, wie auch schon häufiger in dieser Dissertation angemerkt, auf Polyacrylamide, PEG, PVA, PHEMA und Polydimethylsiloxan (PDMS) beschränkt. Besonders erwähnenswert ist die Studie von Leigh *et al.*, in der zwitterionische Filme mit Hilfe von Photomasken polymerisiert wurden. Anschließende Adhäsionsstudien von Fibroblasten

zeigten hier eine verringerte Zelldichte.<sup>347</sup> Somit sind die Ergebnisse dieser Dissertation als Ergänzung für syn. Hydrogele anzusehen. Dennoch ist nicht zu ignorieren, dass keine vollständige Adhärenz zu beobachten war. Anhand der vorliegenden Literatur können daher Ladung der Polymerketten, mechanische Eigenschaften des Netzwerks und Oberflächenbeschaffenheit als hypothetische Ursachen formuliert werden. Bei allen aufgeführten Hydrogelen handelt es sich um ungeladene Polymerketten. Bereits in den vorangegangenen Bakterienstudien wurde auf den negativen Einfluss positiver Ladungen hingewiesen. Somit ist ein vergleichbarer Einfluss an dieser Stelle nicht auszuschließen. Des Weiteren ist ein ausgeprägter Einfluss der Rigidität auf die Aktivierung der Fibroblasten bekannt. Liu *et al.* verwendeten für ihre Studien Hydrogele mit Gradienten des Schermoduls von 0,1 bis 50 kPa.<sup>348</sup> Mit einem Wert von < 5 kPa (B10) bzw. < 2,5 kPa (B50, B100) ist damit nicht auszuschließen, dass die Hydrogele der B-Reihe zu weich sind. Unterstützt wird diese Annahme durch die etwas ausgeprägtere Adhärenz am B10. Die dazugehörige Oberflächenbeschaffenheit und Netzwerkstruktur besitzen ebenfalls einen Einfluss auf die Zellen, respektive auf die Migration. Die aufgeführten Strukturen im µm-Bereich und eine raue Oberfläche in Kombination mit der Ladung der Polymerketten erschwert die Ausbildung von Fokalkontakten.

Analoge Betrachtungen können auch für die Saos-2 Zellen<sup>349</sup> und Chondrozyten<sup>350</sup> aufgeführt werden. Daraus wird ersichtlich, dass vor allem für die Chondrozyten die Hydrogele der B-Reihe zu weich sind, da Knorpel mit einem Modul von 0,7-0,8 MPa beschrieben werden. Daher ist zusammenfassend besonders erwähnenswert, dass trotz der ausgeführten Schwachpunkte kein genereller Zelltod aller untersuchten Zelltypen dokumentiert werden konnte.

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass diese Studien anhand von Modellsystemen in Form einzelner Zelllinien durchgeführt wurden. Das zwitterionische Hydrogele auch im biologischen System vielversprechende Ansätze liefern, zeigten bspw. He *et al.*<sup>76</sup> anhand von Wundheilungsstudien an Mäusen, Zhang *et al.*<sup>77</sup> mittels implantierbaren Hydrogelen und Zhu *et al.*<sup>351</sup> durch Sensoren im Zusammenhang mit diabetischem Ulkus (Geschwüren). Folglich stellen die Studien dieser Dissertation einen praktikablen Beginn für die Verwendung im biomedizinischen Bereich dar.

Im anschließenden Kapitel wurden Hydrogele mittels alternativer Initiationschritte synthetisiert. Als erstes dienten dabei Redoxreaktionen zur Generierung von Redoxgelen und Kryogelen in Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur. Die Redoxinitiierung mittels Peroxide ist in der Literatur bekannt.<sup>352,353</sup> Die Verwendung eines solchen Systems ist aufgrund der Instabilität von Peroxiden und der Toxizität der tert. Aminen eingeschränkt. Folglich sind Studien zu milderer Bedingungen einer Redoxinitiierung zu finden.<sup>354,355</sup> Hydrogele können ebenfalls durch solche Polymerisationsarten synthetisiert werden.<sup>356,357</sup> Klarer Vorteil des

SPE-Redoxgels ist die geringe Gelierungszeit. In den aufgeführten Beispielen ist von 15 min bis 15 h die Rede. Nachteilig ist die geringe Formstabilität.

Die Synthese von Kryogelen ist weiterhin bekannt. Doch auch hier unterscheiden sich die Synthesestrategien.<sup>358–360</sup> So beschrieben Saviner *et al.* eine klassische Methode, welche für diese Dissertation verwendet wurde, und eine Methode mit zusätzlichen Kühlungsschritten.<sup>358</sup> Aufgrund der Vielzahl von Anwendungsgebieten und verwendeten chemischen Systemen, soll das Hauptaugenmerk im Folgenden auf polyampholytische Kryogele gelegt werden. Kudaibergenov fasste dabei die Eigenschaften solcher Systeme auf synthetischer Basis in einem Review zusammen.<sup>361</sup> Vergleichbar ist zunächst die makroporöse Struktur von Kryogelen. In dieser Arbeit konnten SPE-basierte Kryogele mit einer Netzwerkstruktur im Bereich bis zu 10 µm generiert werden. Dies ist im Verhältnis zu anderen Arbeiten recht klein. So beschrieben Sener *et al.* [2-(methacryloyloxy)ethyl]dimethyl-(3-sulfopropyl)ammoniumhydroxid (SBMA) basierte Kryogele mit einer Porengröße von bis ca. 100 µm.<sup>362</sup> Auch andere zwitterionische Systeme weisen eher größere Poren auf. Zudem beschrieben Boyacin *et al.* eine starke Abhängigkeit der Quelleigenschaften und mech. Modulen von der Synthesetemperatur.<sup>363</sup> Dies wurde in dieser Arbeit nicht betrachtet. Auffällig ist außerdem, dass die Poren der SPE-Kryogele im Vergleich zu den genannten Systemen nicht penetrieren. Da sich nach Saviner *et al.* das vollständige Netzwerk erst nach dem Auftauen bildet, ist nicht auszuschließen, dass die Initiatormenge zu hoch gewählt wurde, weshalb die Poren durch eine weitere Polymerisation geschlossen wurden.<sup>358</sup> Außerdem wird von einer breiten Porengrößenverteilung aufgrund des Temperaturgradienten in der Probe berichtet. So wird beschrieben, dass Poren am Boden des Reaktionsgefäßes kleiner (ca. 30 µm) sind. Grund dafür ist auch die Kühlrate. Da in dieser Arbeit die Reaktion bei -32°C durchgeführt wurde, ist also nicht auszuschließen, dass eine hohe Kühlrate kleine Eiskristalle und damit kleinere Poren hervorbringt. Des Weiteren kann die REM-Aufnahme keiner Position im Gel zugeordnet werden, weshalb eine weitere Analyse entfällt.

Solche makroporösen Strukturen werden u. a. als Adsorbens eingesetzt. Daher wurden Separationsmessungen von org. Farbstoffen aus wässriger Lösung durchgeführt. Eine Gütebeurteilung der entwickelten Materialien kann nur begrenzt durchgeführt werden. In der Literatur sind zwar eine Vielzahl von Studien bezüglich Wasseraufreinigung zu finden, jedoch sind die Materialien nicht uneingeschränkt vergleichbar und die verwendeten Farbstoffe als Modellsystem variieren.<sup>364,365</sup> Diese Problematik soll anhand der nachfolgenden Beispiele mit Kryogelen illustriert werden. So beschrieben Uyar *et al.* ein Ton-Komposit mit Alginat in Form von kryogelanalogen Kügelchen zur Entfernung von MB.<sup>365</sup> Chen *et al.* fokussierten sich auf die Entfernung von MO durch nanocellulosebasierte Kryogele in Verbindung mit TiO<sub>2</sub>.<sup>366</sup> Auch Sahiner *et al.* beschäftigten sich mit Kompositen. Kryogele aus Poly(4-vinylpyridin) wurden mit Graphenoxid versetzt.<sup>367</sup> Zusammengenommen konnten in diesen Studien 48-99 % der

Farbstoffe entfernt werden. Damit sind die hier vorgestellten Systeme auf Basis von SPE und TMBEMPA/Br in ihrer Eigenschaft zur Farbstoffaufnahme vergleichbar. Besonders erwähnenswert ist dabei jedoch, dass das neue Material selektiv für MO ist, der Synthesaufwand verringert werden kann und die chem. Struktur deutlich vereinfacht ist. Lediglich das System von Sahiner et al. zeigten ebenfalls eine Selektivität, doch auch hier ist das Material chem. weitaus komplexer. Der Vollständigkeit halber sei auch eine Studie von Ari *et al.* hingewiesen. Hier ist eine inverse Selektivität gegenüber MB dokumentiert. Doch auch hier wird ein komplexes System aus dextranbasiertem Kryogel verwendet.<sup>368</sup>

Auch die Initiierung mittels elektromagnetischer Strahlung wurde durchgeführt. Das Konzept ist auch für Hydrogele in Verbindung mit einer radikalischen Syntheseroute weit verbreitet.<sup>307,369</sup> Nicol befasst sich in seinem Review auch mit der Auswahl der Initiatoren und polymeren Systemen. Die Verwendung von Irgacure 2959 ist aufgrund einer guten Reaktivität mit (Meth)-acrylaten und einer geringeren Zytotoxizität gebräuchlich. Wie auch schon wiederholt erwähnt beschränken sich die Studien auf Biopolymere und synthetische Systeme auf Basis von PEG, PHEMA und PVA.<sup>307</sup> Daher stellt diese Arbeit wiederum die Erweiterung von syn. Hydrogelen da. Obendrein wurden in dieser Dissertation Hydrogelmembranen hergestellt, welche in der Literatur für eine Vielzahl von Anwendungsgebieten analysiert werden.<sup>370</sup> Dementsprechend werden sowohl physikalische als auch chemische Vernetzungen zur Hydrogelbildung verwendet. Dennoch ist auch hier die Photopolymerisation nicht unbekannt.<sup>369</sup> Entscheidend ist u. a. die geringe Gelierungszeit. In Vergleichbaren Systemen liegt diese bei wenigen Minuten. So beschrieben beispielsweise Pan *et al.* ein System aus Acrylamid und [2-(methacryloyloxy)ethyl] dimethyl-(3-sulfopropyl) ammoniumhydroxid (MEDSAH) und dessen Speichermodul  $G'$  während der ersten 500 s.<sup>371</sup> In 300 s wurde die Gelierung von PEG modifizierten Hydrogelen von Censi *et al.* beschrieben.<sup>372</sup> Auch Fu *et al.* studierten die mech. Eigenschaften über einen Zeitraum von 10 min nach einer Belichtung von 2,5 min.<sup>373</sup> Insofern liegt die Gelierungszeit der SPE-Membranen in einem ähnlichen Bereich und stellt keine grundlegende Verbesserung gegenüber der Literatur dar. Nichtsdestotrotz sei auch darauf hingewiesen, dass durchaus längere Belichtungszeiten bekannt sind. Ein extremes Beispiel zeigten Zhou et al anhand von PNIPAM. Hier wurden 10 h mit UV-Licht (20 W) bestrahlt.<sup>80</sup> Ansonsten wird in vielen Veröffentlichungen zu dieser Synthesestrategie der Fokus auf die jeweilige Anwendung gelegt, weshalb die weitere Einordnung stark erschwert wird. Dies gilt auch für die Netzwerkstruktur.

Auch die Entwicklung eines Hybridhydrogels wurde in dieser Dissertation gezeigt. Dies ist in der Literatur bekannt. An dieser Stelle soll auf eine Unübersichtlichkeit in der Verwendung dieses Begriffs hingewiesen werden. So werden sowohl syn. Hydrogele mit Proteinen/Peptiden<sup>374,375</sup> als auch Hydrogele mit Nano- bzw. Mikropartikeln (z.B. Peptide, Arzneimitteln)<sup>376</sup> als solche bezeichnet. In dieser Arbeit wird die Kombination aus natürlichen

und synthetischen Komponenten darunter verstanden. Ein besonderes Augenmerk soll im Folgenden auf Hydrogele mit Gelatine gelegt werden. So beschrieben beispielsweise Thangprasert *et al.* Hydrogele auf Basis von Gelatine und PVA zur Anwendung im Bereich „*Tissue Engineering*“.<sup>377</sup> Auch in diesem Fall stellen die Ergebnisse dieser Dissertation eine Erweiterung der Kombinationsmöglichkeiten jenseits der typischen syn. Monomeren/Polymere dar. Im Vergleich zu den aufgeführten Beispielen ist vor allem der Synthesaufwand als auch die Dauer stark verkürzt. Ausnahme bildete die Synthese der methacrylierten Gelatine mit ca. sieben Tagen. Eine weitere Einschätzung ist nicht möglich, da lediglich die Synthese und Netzwerkstruktur im Vordergrund stand.

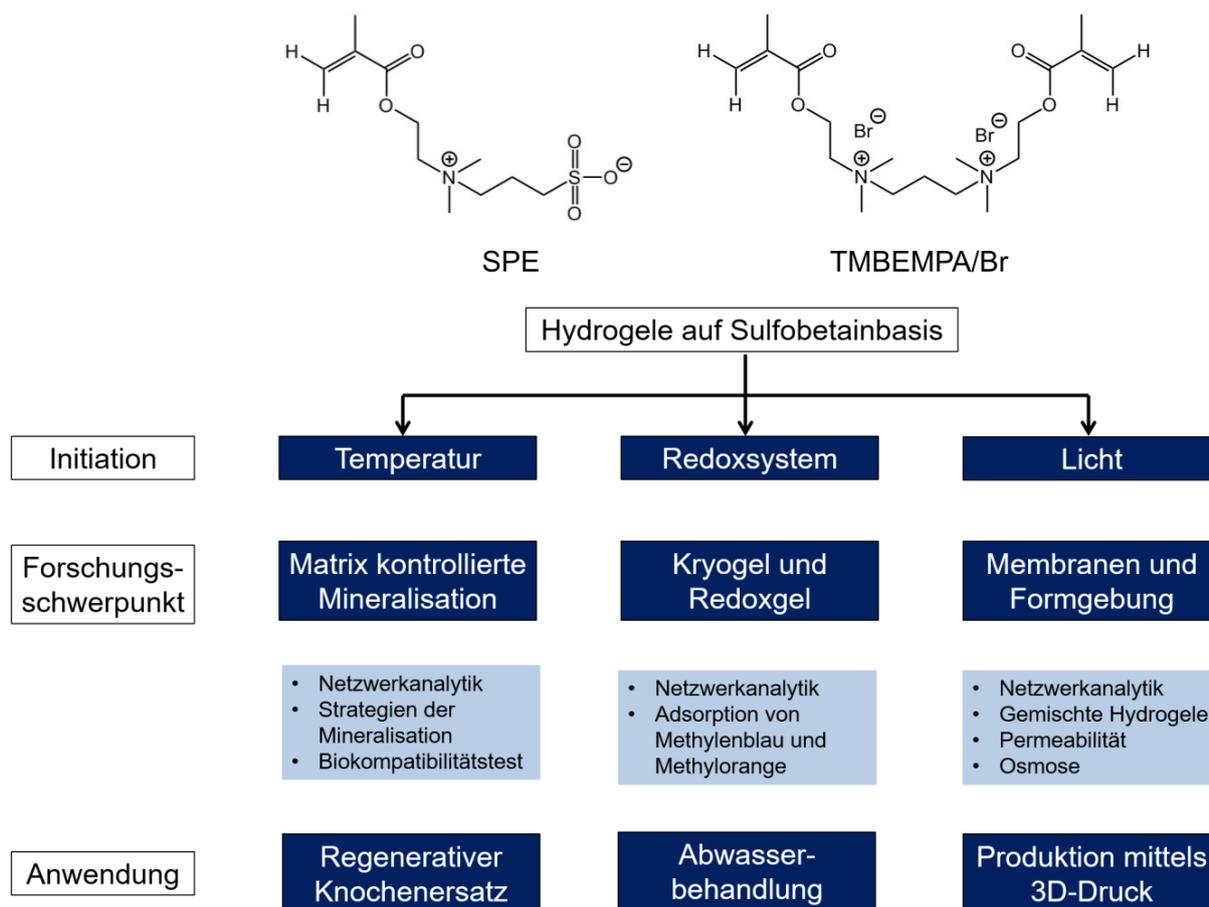
Neben dieser klassischen Photopolymerisation findet das „*Rapid Prototyping*“ oder auch eine additive Fertigung in Form von 3D-Druck Anwendungen für Hydrogele immer mehr Beachtung.<sup>36,378–380</sup> In dieser Dissertation wurde das Prinzip SLA und „*Inkjet*“ verwendet. Eines der Kernprobleme beim SLA Verfahren ist die Abstimmung der Photoinitiatoren (PI) auf das 3D-Drucksystem. Für den kommerziell weit verbreiteten Bereich um 405 nm existieren nur wenige PI.<sup>381,382</sup> Daher wurde in dieser Dissertation Ivocerin® von Ivoclar Vivadent verwendet, welches für diesen Bereich entwickelt wurde.<sup>383</sup> Eine Aushärtung konnte nur im Nachbelichter erreicht werden. Auch in der Literatur sind Studien zur SLA-Technik in Verbindung mit Hydrogelen erst seit ca. 2016 zu finden. Daher wurde das „*Inkjet*“ Verfahren verwendet. Auch hier scheiterte die Aushärtung zunächst an einer zu geringen Intensität der verwendeten Lichtquelle und der damit verbundenen Gelierungszeit. Daher wurde das zuvor beschriebene Redoxsystem verwendet. Nach dem Wissen der Autorin ist das redoxbasierte „*Inkjet*“ Verfahren kaum analysiert. Lediglich Zhang *et al.* beschrieben ein ähnliches System zur Herstellung von „*Microarrays*“ in der Molekularbiologie.<sup>384</sup> Des Weiteren veröffentlichten Delaney Jr. *et al.* eine Arbeit zu Calciumalginat Hydrogelen.<sup>385</sup> Generell kommt das Konzept des „*reactive inkjet printing*“ dem hier in dieser Arbeit verwendeten Konzept am nächsten.<sup>386</sup> Nichtsdestotrotz ist eine weitere Einordnung nicht möglich aufgrund fehlender Vergleichsmöglichkeiten. Alle zusätzlich aufgeführten Machbarkeitsstudien betreffend Oberflächenmodifikation, FDM, Superabsorber und Ionogele lieferten keine diskutierbaren Ergebnisse.

Zusammenfassend liefert diese Dissertation Ergebnisse im Bereich der syn. Hydrogel und der Analytik von inhomogenen Netzwerkstrukturen. An vielen Stelle kann die Literatur bestätigt werden. Jedoch können in einigen Schwerpunkten, z.B. „*Pore in Pore*“ Struktur mittels Kryore-M, Niederfeld-NMR an langen Seitenketten, selektiver Adsorption von Peptiden und selektiver Trennung von MO und MB, innovative Aspekte formuliert werden. Auch kritische Hinterfragungen der literaturbekannten Methoden und Erweiterungen bisheriger Kenntnisse in Bereich redoxbasiertem „*Inkjet*“, Hybridhydrogele und Wechselwirkungen von syn. Hydrogelen mit biologischen Komponenten vervollständigen diese Dissertation.

## 6. Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Kapitel werden die Projekte und Ergebnisse dieser Arbeit zusammengefasst. Dabei wird auch Bezug auf die in Kapitel 1 aufgestellten Leitfragen genommen. Eine Vorstellung von weiterführenden Projektideen ergänzen dieses Kapitel in Form eines Ausblicks.

In dieser Arbeit konnten erfolgreich mech. stabile Hydrogele über eine freie radikalische Polymerisation (FRP) in Wasser synthetisiert werden. Dabei diente vor allem das Sulfobetain SPE als Monomer. Dieses wurde mit dem über eine nukleophile Substitution erster bzw. zweiter Ordnung hergestellten Vernetzer TMBEMPA/Br umgesetzt. Dieser zeigt eine herausragende Löslichkeit von ca. 1 g/mL in Wasser, wohingegen kommerzielle Vernetzer entweder keine Angaben machen oder deutlich geringer löslich sind. In Abhängigkeit vom Initiationsschritt der FRP zur Synthese der Hydrogele können drei grundlegende Forschungsschwerpunkte formuliert werden. Zur besseren Übersicht wurde dies in Abbildung 6. 1 schematisch dargestellt.



**Abbildung 6. 1:** Schematische Zusammenfassung der in dieser Arbeit entwickelten Systeme, Forschungsschwerpunkte und deren Anwendungsgebiet.

Hydrogele über thermisch initiierte FRP (Abbildung 6. 1): linker Pfad des Diagramms<sup>224</sup>

Im ersten Projekt bezüglich der thermisch initiierten FRP konnten erfolgreich die Hydrogele mit SPE und TMBEMPA/Br in Wasser synthetisiert werden. Durch Variation des Verhältnisses dieser beiden Komponenten konnten die Hydrogele B10, B50 und B100 entwickelt werden. Um den Einfluss der einzelnen Funktionalitäten des Sulfobetains analysieren zu können, wurden die Vergleichssysteme S10 und T10 synthetisiert. Dazu wurden das SPM mit einer Sulfonatgruppen und das TMAEMA als eine quartären Ammoniumverbindung verwendet. Diese neuen Hydrogele wurden im ersten Abschnitt dieser Arbeit hinsichtlich ihrer makroskopischen, mechanischen und thermischen Eigenschaften optimiert und die Netzwerkbeschaffenheit analysiert. Dabei wurde das Hauptaugenmerk auf die nasschemische Analytik gelegt. Das Fazit aus allen verwendeten Methoden ist, dass das Vernetzer zu Monomer-Verhältnis die Eigenschaften bestimmen. Dabei können zwei Gruppen unterschieden werden. B50 und B100 zeigen ein analoges Verhalten. Lediglich B10 weist deutliche Unterschiede auf, welche im Folgenden zusammengefasst werden.

Zunächst weist das B10 ein stärkeres Quellvermögen auf, als die beiden anderen Typen. Dies ist zunächst gegen die Lehrbuchtheorie, da ein weniger vernetztes System stärker quellen sollte. Die Gelierungszeiten wurde mittels umgekehrter Röhrenmethode und TR-DLS Messungen bestimmt, wobei beide Methoden vergleichbare Ergebnisse lieferten. Dabei hat der Vernetzeranteil keinen signifikanten Einfluss auf die Gelierung, jedoch wird diese durch das Monomer und die damit verbundenen WW. beeinflusst.

Die Netzwerkstruktur wurde anhand lichtmikroskopischer Aufnahmen und Kryo-REM Aufnahmen analysiert. Dabei wurde eine neuartige „Pore in Pore“ Struktur dokumentiert. Diese ist nach Wissen der Autorin in der Literatur nicht beschrieben. Diese Struktur beinhaltet 1-5  $\mu\text{m}$  große Poren, in denen faserartige Geflechte ein zweites Netzwerk im großen nm-Bereich bilden. Zudem sind die Poren in ein kompaktes Zwischenmaterial ohne erkennbare Hohlräume gebettet. Hypothetisch sind die Poren auf eine Phasenseparation und das umgebene Material auf das Monomer SPE zurückzuführen. Anhand dieser Aufnahmen wurde die teilweise Inhomogenität des Netzwerks festgestellt. Die Maschen des S10s und T10s sind mit 30  $\mu\text{m}$  bzw. 10  $\mu\text{m}$  deutlich größer. Dies resultiert aus den elektrostatischen WW. in Kombination mit der Gelierungszeit.

Diese Netzwerkstruktur steht im Einklang mit den mech. Eigenschaften der Hydrogele. Je höher der Vernetzeranteil, desto höher auch das Speichermodul  $G'$  und das Verlustmodul  $G''$ . Generell liegen die Werte zwischen 4900-2000 Pa und 400-160 Pa. Damit sind diese Systeme deutlich weicher als angestrebte Materialien in diesem Bereich. Das S10 ist mit ca. 5800 Pa das härteste Material dieser Dissertation und das T10 ist mit ca. 4000 Pa etwa vergleichbar mit dem B10. Analoge Betrachtungen sind für  $|\eta^*|$  möglich, welche zwischen ca. 1240 (S10) und 320 (B100) Pa-s variiert.

Thermische Eigenschaften der Hydrogele weisen keine generelle Unterscheidung untereinander in Abhängigkeit vom Vernetzergrad und Monomer auf. Für alle Systeme liegt die erste Zersetzungstemperatur bei etwas oberhalb von 250°C. Lediglich die Restmasse des S10s ist aufgrund der Gegenionen des Monomers und der Sulfonatgruppen erhöht. Auch die mittels DSC bestimmte Gefrierpunktniedrigung auf -12,8 bis -20,4 °C lässt keine Unterscheidung zu und ist zudem literaturbekannt. Im Kontext zu den thermischen Eigenschaften steht die Temperatur induzierte Trübung gemäß Hofmeisterserie. Für das B100 und B50 konnte dabei eine zeitlich bzw. temperaturbegrenzte UCST nach vorzeitiger Erwärmung analysiert werden. Beispielsweise konnte dies vom chaotropen  $\text{CaCl}_2$  in wässriger Lsg. nicht ausgelöst werden, jedoch vom kosmotropen  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

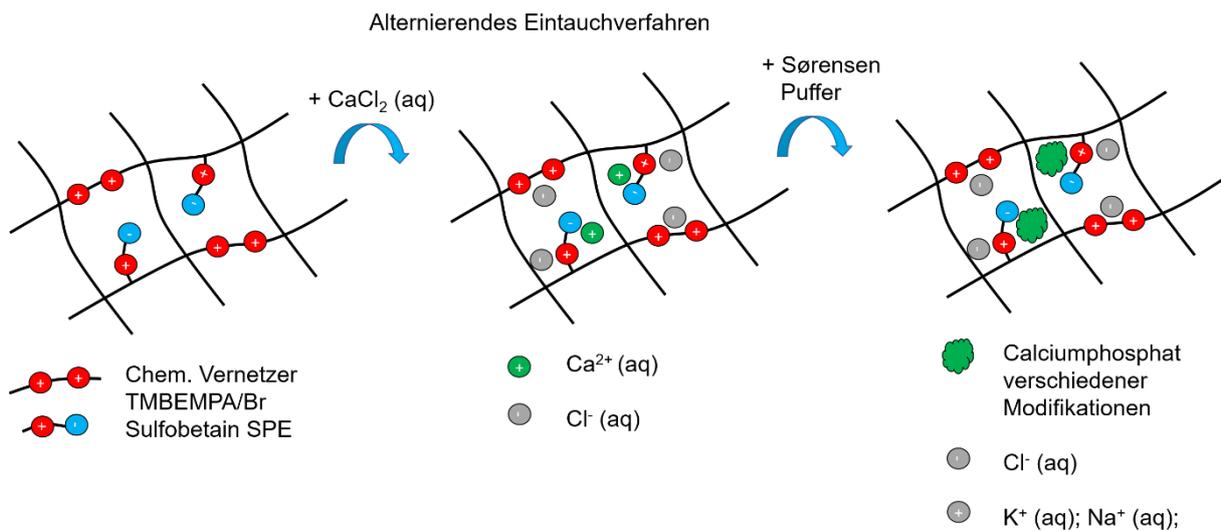
Die Charakterisierung inhomogener Netzwerke im GG.-Quellzustand wurde mittels SAXS und Niederfeld-NMR durchgeführt. Aus den zunächst erhaltenen Streukurven wurde durch eine Auswertung mittels Ornstein-Zernicke Gleichung die Korrelationslängen  $\xi$  und die „*mesh compactness*“  $D$  quantifiziert. So weist nur das B10 das für Hydrogel typische zweikomponentige Verhalten der Streuintensitäten auf. So variiert  $\xi$  zwischen ca. 3,17 und 2,29 nm mit abnehmender Vernetzerdichte. Diese Tendenz trifft auch auf  $D$  zu, welcher im Bereich 1,44 und 1,29 liegt. Für das S10 und T10 können keine klaren Tendenzen formuliert werden, jedoch ist das T10 in den Werten ähnlich wie B50 und B100. Zudem wurde das Netzwerk direkt nach der Synthese im Anschluss der Gelierungszeitbestimmung mittels TR-DLS analysiert. Unter der Annahme, dass dies vergleichbar mit dem Zustand nach einer klassischen Synthese ist, konnten Rückschlüsse auf die Alterungsprozesse des Netzwerks getroffen werden. Die Erwartungen einer Maschenvergrößerung konnten nicht erfüllt werden, jedoch konnten die ermittelten Werte im Kontext der elektrostatischen WW. begründet werden.

Die Methode zur Quantifizierung von Netzwerken mittels Niederfeld-NMR ist in der Literatur noch spärlich beachtet. Daher stellen die Ergebnisse dieser Arbeit eine Erweiterung der bisherigen Methode auf sterisch anspruchsvolle und polyatomare Seitenketten dar. So konnte die Mobilität des Netzwerks über einen simultanen KWW-Fit über einen MSE, FID und Hahn-Echo bestimmt werden. Dabei steht die ermittelten  $T_2$  Werte für eine herausragende Mobilität für alle betrachteten Systeme. Über anschließende MQ-Experimente bei unterschiedlicher Temperatur von 30-100°C konnten die nicht-elastischen Defekte (lose Kettenenden), die residuale dipolare Kopplungskonstante ( $\propto$  Netzwerkbeschaffenheit) und dessen Verteilung (Maß für Inhomogenität) berechnet werden. Dazu wurde der literaturbekannte Fit entsprechend der Seitenketten im Netzwerk weiterentwickelt. Zusammengenommen wurden neue Hydrogelmaterialien entwickelt und die Analytik von inhomogenen Netzwerken vorangebracht.

Diese Systeme dienen nun der Analyse der Matrix gesteuerten Mineralisation von Calciumphosphat (Schwerpunkt) und Calciumcarbonat (Vergleichsmessungen).

Den Beginn stellten aber zunächst Kristallisationsexperimente in Lösung dar. Die in der Literatur etablierte Methode der Trübungstitration lieferte bei den Monomeren keinen signifikanten Einfluss. Zudem wurde in dieser Dissertation die Versuchsgestaltung und Auswertung kritisch hinterfragt. Auch die Analyse des pH-Wertverlaufs über 24 h, eine morphologische Begutachtung mittels opt. Lichtmikroskopie und die Analytik der gebildeten festen Phase lieferten Ergebnisse, welche mit der Literatur übereinstimmen. So wird das Calciumphosphat durch den pH-Wert reguliert. Bei einem pH-Wert = 6 bildet sich vorrangig Brushit und bei pH = 7,42 HAP. Belegt wurde dies anhand IR und Raman-Messungen, SEM/EDX-Aufnahmen und Diffraktogramme mittels XRD.

Die Mineralisation auf bzw. in den Hydrogelen wurde gemäß dem alternierenden Eintauchverfahren durchgeführt. Schematisch kann dies gemäß der nachfolgenden Abbildung 6.2 zusammengefasst werden.



**Abbildung 6. 2:** Schematische Darstellung der Matrix kontrollierten Mineralisation von Hydrogelen der B-Reihe mit Calciumphosphat über das alternierende Eintauchverfahren.

Neben der Mineralisation bei pH= 7,42 wurden der pH-Wert im Bereich 5-9 variiert. Auch die Einflussfaktoren Konzentration und Temperatur wurden beachtet. Die qualitative Analyse erfolgte im Vergleich zur Mineralisation in analoger Vorgehensweise mit opt. Lichtmikroskopie, Raman- und IR-Spektroskopie und XRD. Auch hier bestätigte sich, dass die Matrix keinen signifikanten Einfluss auf die gebildete Calciumphosphat Modifikation aufweist. Auch hier dominiert der pH-Wert. Zusätzlich ergänzt eine quantitative Analyse mittels TGA die Auswertung. Simplifizierte Berechnungen ermitteln einen ungefähren anorg. Anteil im

Hybridmaterial von ca. 10 %. Dies konnte nicht signifikant durch eine Temperaturerhöhung auf 37°C verändert werden. Eine Verfünffachung der Konzentration resultierte in einem Anteil von ca. 17 %. Dies stellt keine entscheidende Verbesserung gegenüber der eigentlichen Prozedur dar. Somit konnte die in der Literatur bekannte Problemstellung belegt werden, dass die Mineralisation im Gelinneren nur schwer zugänglich ist, da das Gellinnere instantan mit dem Feststoff an der Oberfläche blockiert wird.

Als alternative Mineralisationsstrategie eignet sich die Mineralisation im elektrischen Feld. In einer horizontalen Gelelektrophorese wurde das Agarosegel durch ein B100 ersetzt. Die Mineralisation war nur an einem Rand des Hydrogels erfolgreich, was auf die zuvor durchgeführte Quellung in  $\text{CaCl}_2$  Lösung zurückzuführen ist. Aufgrund eines hohen Materialverbrauchs wurde auf weitere Messungen verzichtet. Dennoch stellt dies nach Wissen der Autorin die erste Anwendung an syn. Hydrogelen dar.

Analog wurde die matrixgesteuerte Mineralisation von Calciumcarbonat analysiert. Zunächst erfolgte die Aufklärung der Änderung makroskopischen Erscheinungsform. Die Änderung von kompakt weißer Trübung über Nacht zu kleinen Feststoffpartikeln konnte mittels lichtmikroskopischer Aufnahmen der Ostwald Reifung zugeordnet werden. Mittels Raman und XRD konnten alle drei Modifikationen, namentlich Calcit, Vaterit und Aragonit, bestimmt werden. Ein genauer Trend konnte hier nicht gefunden werden. Wiederum lieferte TGA Messungen quantitative Aussagen. Der anorg. Anteil ist mit ca. 15 % etwas höher und es zeichnet sich der Trend entsprechend der Vernetzungsdichte ab. Je geringer die Vernetzungsdichte, desto höher der anorg. Anteil. Auch hier hat die Temperatur im betrachteten Bereich keinen signifikanten Einfluss. Des Weiteren kann der Anteil wiederum durch Erhöhung der Konzentration bis auf ca. 45 % gesteigert werden, jedoch ist auch hier keine Verfünffachung erkennbar. Außerdem wurde ein Kooperationsprojekt vorgestellt, indem die Ultraschall assistierte Mineralisation am Hydrogel durchgeführt wurde.

Die Wechselwirkung der Hydrogele mit diversen biologischen Systemen beendet dieses Teilkapitel. Zu Beginn erfolgt die Beurteilung der Auswirkung von Zellmedien (EtOH, PBS, DMEM) auf die Hydrogele. Dabei konnte die zuvor beschriebene Wechselwirkung der zwitterionischen Funktionalität bestätigt werden. Außerdem besitzt EtOH den stärksten Einfluss auf mech. Eigenschaften, was anhand von DMA Messungen quantifiziert wurde. Stereomikroskopische Aufnahmen bestätigen dies. Dennoch können serielle Schnitte eine generelle makroskopische Homogenität belegen. Lediglich in den ersten Schichten auf beiden Hydrogelseiten können Inhomogenitäten festgehalten werden. Als Ausgang für alle weiteren Messungen wurden das Färbeverhalten der Hydrogele mit gängigen biologischen Systemen zudem beurteilt.

Nach dem Wissen der Autorin wurde das erste Mal die selektive Bindung von Peptidsequenzen an einer zwitterionischen Hydrogeloberfläche mittels Phagen analysiert.

Hier zeigte sich, dass die Sequenzen GQSEKHL oder QQTNWSL besser binden als TVNFKLY. Dieser Unterschied konnte in einem ersten Versuchsaufbau mittels Fluoreszenzspektroskopie zwar nicht bestätigt werden, jedoch in Verbindung mit der Bindungsstärke von Phagen. Auch eine stärkere Bindung des 12mer VPTFWTKIEHAA konnte mittels Phagen ermittelt werden. Eine grundlegende Erklärung für die Adsorption konnte anhand der Aminosäuren und den Eigenschaften gemäß Mengendiagramm nicht gefunden werden. Jedoch konnte über ergänzende Peptid Modelling Methoden<sup>19</sup> das elektrostatische Potential der Peptide und deren Flexibilität als Ursache postuliert werden.<sup>244</sup>

Die Analytik der Monomere und Hydrogele auf Bakterien lieferten keine aussagekräftigen Ergebnisse. In Lösung konnte eine geringe antibakterielle Wirkung der Monomere auf *S. aureus* und *E. coli* von 10 mg/mL gemessen werden. Lediglich bei *E. coli* konnte das TMAEMA entsprechend der positiven Ladung schon bei 1 mg/mL eine sichtbare Wirkung erzeugen. Eine generelle antibakterielle Wirkung in Bezug auf Wachstum und Besiedlung konnte nicht nachgewiesen werden.

Auf Amöben konnte kein zytotoxischer Effekt mittels Fluoreszenzmessungen beobachtet werden. Weiterhin getestete Einflüsse der Hydrogele auf verschiedenste Zelltypen lassen sich auf die Aspekte „keine direkte Zytotoxizität“ aber „geringe bis keine Adhärenz“ zusammenfassen. Dies gilt für Fibroblasten, Saos-2 Zellen und Chondrozyten. Dazu wurden verschiedenste biologische Methoden, wie MTT-Test und WST-8, angewendet. Besonders bemerkenswert ist, dass hiermit die vollständige Entfernung des Lösungsmittels DMF aus der Vernetzersynthese bewiesen werden konnte.

### Hydrogele über redoxinitiierte FRP (Abbildung 6. 1): mittlerer Pfad des Diagramms<sup>387</sup>

Neben der Grundlagenforschung zur Matrix kontrollierten Mineralisation konnten Redox- und Kryogeale synthetisiert werden. Dazu wurde das literaturbekannte redoxbasierte System KPDS und TMEDA verwendet. Hydrogele bei RT wiesen eine nicht reproduzierbare Formstabilität auf. Hingegen konnten Kryogeale mit einer Netzwerkstruktur von 10 µm (Kryo-REM) erhalten werden. Dies ist vergleichsweise klein. Als Ursache konnten hypothetisch die Initiatormenge und die Kühlrate identifiziert werden. Somit wurde das eigentliche Ziel der Vergrößerung der Poren nicht erreicht. Dennoch eignen sich die Kryogeale als Filtermaterialien von Abwasser. Anhand von Adsorptionsisothermen konnte sie selektive Entfernung von MO gegenüber MB belegt werden. MO wird sowohl isoliert als auch in Mischung zu 85 % entfernt. Hingegen kann MB nur zu 8-10 % abgetrennt werden. Dies stellt nach Wissen der Autorin die erste Erwähnung in der Literatur dar. Nicht vollständig auszuschließen ist, dass dies auf dem positiv geladenen Vernetzer TMBEMPA/Br beruht. Eine weitere Gütebeurteilung mit anderen Materialien ist nur

---

<sup>19</sup> Peptid Modelling wurde durch Paul Schrank und Mehdi D. Davari durchgeführt.

begrenzt möglich, da die Systeme eine zu unterschiedliche chemische Struktur aufweisen. Dennoch ist die Filterleistung vergleichbar gut.

Des Weiteren konnten Hydrogelfilme über ein redoxbasiertes „*Inkjet*“ Verfahren, welches in der Literatur wenig Beachtung findet, synthetisiert werden, jedoch ist die Praktikabilität ausbaufähig, da eine Gelierung nicht unterhalb von 3 min erfolgte.

### Hydrogele über photoinitierte FRP (Abbildung 6. 1): rechter Pfad des Diagramms

Die Hydrogelsynthese über eine Photoinitiation generierte Membranen mit einer Dicke < 0,5 cm und einem Durchmesser von ca. 7,7 cm. Die Entfernung von Wasser ermöglicht stabile Xerogelfilme. Dies ist lediglich durch Substitution des Photoinitiator und Reduktion der Lösungsmittelmenge möglich. Zunächst ist die fehlende Trübung nach der Synthese aufzuführen. Hypothetisch ist hier die eingeschränkte Beweglichkeit der Seitenketten und/oder eine veränderte Vernetzerdichte als Ursache zu sehen. Nichtsdestotrotz ist die Netzwerkstruktur bestimmt mittels Kryo-REM vergleichbar mit der Porenstruktur der thermisch initiierten Systeme. Die Initiation besitzt somit keinen Einfluss auf die generelle Netzwerkbeschaffenheit. Die Syntheszeit von 10 min ist vergleichbar mit der Literatur. Die weitere Analytik mittels IR-Spektroskopie und TGA lieferten keine weiteren diskutierbaren Aspekte im Vergleich zum zuvor Beschriebenen. Machbarkeitsstudien zur Verwendung als Osmosemembran und Beimengungen von HAP sollen als Ausgang für weitere Studien dienen.

In analoger Weise wurden Hybridhydrogele mit methacrylierter Gelatine (synthetisiert von Lisa Rebers) generiert. Dies stellt eine Erweiterung der syn. Komponente in der Literatur dar, welche in dieser Form wenig durchgeführt wird. Auch hier konnte keine zusätzlichen Informationen aus IR und TGA gewonnen werden. Kryo-REM Aufnahmen belegen, dass die Netzwerkstruktur hauptsächlich durch das SPE bestimmt wird.

Zur seriellen Produktion der Hydrogele wurde der 3D-Druck mittels SLA analysiert. Hier konnte durch Substitution des Photoinitiators Ivocerin® eine Aushärtung im Nachbelichter bei 405 nm erfolgreich durchgeführt werden. Ein direkter Druck scheiterte an der Haftung am Druckbett und der benötigten Menge an Prekursorlösung. Auch ein simplifiziertes „*Inkjet*“ Verfahren mit UV-Lichtlampe lieferte keine Verbesserung.

### Weitere Aspekte

Losgelöst vom Diagramm wurden verschiedene Machbarkeitsstudien in den Bereichen Oberflächenmodifikation, Ionogele und Superabsorber durchgeführt. Diese lieferten keine diskutierbaren Ergebnisse.

### Bewertung der Leitfragen

Angesichts der in Kapitel 1 formulierten Leitfragen kann folgendes Resümee getroffen werden.

**Leitfrage 1:** Ist es möglich Hydrogele auf Basis von Sulfobetainen mit möglichst geringem synthetischem Aufwand herzustellen?

Es ist möglich Hydrogele auf Basis von Sulfobetainen zu synthetisieren. Der synthetische Aufwand wird durch die Wahl der FRP gering gehalten. Lediglich der Austausch des Initiators macht es möglich drei grundlegende Materialien mit analoger Netzwerkstruktur herzustellen.

**Leitfrage 2:** Wie kann möglichst umfangreich das entstandene Netzwerk im Gleichgewichtsquellzustand analysiert werden?

Neben thermischen (mittels TGA und DSC) und mechanischen (mittels Rheologie) Eigenschaften konnte das Netzwerk im Gleichgewichtsquellzustand sowohl qualitativ als auch quantitativ analysiert werden. Dazu wurden unter anderem DLS, SAXS und Niederfeld-NMR verwendet. Beim zuletzt genannten wurde diese Methode zum ersten Mal an inhomogenen Netzwerken mit langen Seitenketten angewendet.

**Leitfrage 3:** Ist es möglich das Hydrogel möglichst vollständig mit Calciumphosphat zu mineralisieren?

Eine komplette Mineralisation konnte, entsprechend dem gegenwärtigen Stand der Forschung, nicht erreicht werden. Es wurde jedoch die doppelte Diffusion und Gelelektrophorese als alternative Methoden getestet, welche vielversprechende Ergebnisse zeigten.

**Leitfrage 4:** Ist ein rein chemisches Netzwerk trotzdem attraktiv für verschiedene biologische Systeme?

Das rein chemische Netzwerk ist für eine Reihe von getesteten Zellen attraktiv. Dazu zählen *Dictyostelium discoideum*, humanen Chondrozyten, Osteosarkomzellen und Fibroblasten. Eine allgemeine Zytotoxizität ist nicht dokumentiert, jedoch kann eine vollständige Adhärenz nicht beobachtet werden. Zur möglichen Verbesserung der Zell-Hydrogel-Wechselwirkung wurde der erste Schritt eines Modifikationswegs durchgeführt, welcher die Identifizierung einer selektiv bindenden Peptidsequenz beinhaltet.

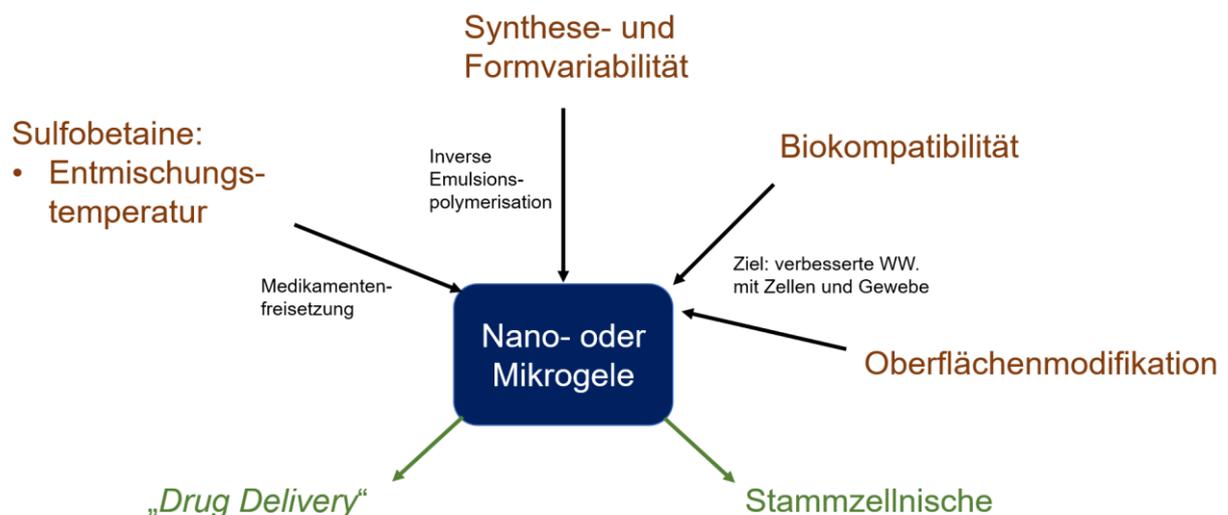
**Leitfrage 5:** Welche weiteren Anwendungsgebiete ergeben sich über die Grundlagenforschung hinaus?

Durch Variation der Initiation der Polymerisation könnten Kryogele zur Wasseraufreinigung und Membranen für osmotische Prozesse entwickelt werden. Außerdem wurden 3D Druck-Verfahren zur seriellen Herstellung überprüft. Erste Machbarkeitsstudien beispielsweise zur Oberflächenmodifikation und Ionogelen zeigen die Variabilität des Systems.

Mit dieser Arbeit konnte das Potential der entwickelten Prototypen gezeigt werden. Naheliegende Modifikationen und Syntheseoptimierungen, wie Parametervariationen während der Synthese zur Netzwerkregulierung, sollen hier nicht Gegenstand des Ausblickes sein, da diese als trivial angesehen werden können. Vielmehr sollen weiterführende Projektideen, welche eine langjährige Entwicklung beinhalten, auf Basis der bisherigen Erkenntnisse vorgestellt werden.

### **Projektidee: Nano- bzw. Mikrogele für „Drug Delivery“ oder Stammzellnischen**

In diesem letzten Teilkapitel soll auf Basis der vorgestellten Ergebnisse eine Projektidee vorgestellt werden. Das grundlegende Konzept ist dabei in der nachfolgenden Abbildung dargestellt.



**Abbildung 6. 3:** Schematische Darstellung der grundlegenden Projektidee auf Basis der Ergebnisse dieser Dissertation. braun – Thematische Ergebnisse dieser Dissertation; schwarz – aus diesen Ergebnissen resultierende neue Aspekte; blau – neues System; grün – Anwendungsgebiet.

Im Zuge dieser Dissertation ist vor allem die extrem wandelbare Synthese der Hydrogele sowohl in Bezug auf Initiationsstrategien als auch Formgebung aufgefallen. Daher wäre ein möglicher Projektansatz Mikro- bzw. Nanogele<sup>388–390</sup> über eine inverse Emulsionspolymerisation (Miniemulsion)<sup>391</sup> herzustellen. Solche Gele auf Basis von PNIPAM (poly-N-isopropylacrylamide) und dessen Derivate sind dabei häufig Gegenstand der

Forschung.<sup>392,393</sup> Anwendung finden solche Systeme unter anderem als Sensor- bzw. Monitoringsysteme<sup>394,395</sup> und sogenannte „*Delivery Vehicles*“<sup>396</sup>.

Vor allem für die Anwendung im Gebiet des „*Drug Delivery*“ können weitere Eigenschaften der Systeme dieser Dissertation ausgenutzt werden. Dazu gehören zum einen die kritische Lösungstemperatur (Kapitel 4.1), welche als Stimulus zur Medikamentenfreisetzung verwendet werden könnte, die Interaktion mit Zellen<sup>397</sup> und die selektiven Interaktion mit Peptidsequenzen (Kapitel 4.3.3), welche weitere Modifikationen der Oberfläche zugänglich machen. Auch die zunächst nicht feststellbare Zytotoxizität (Kapitel 4.3) und die „*antifouling*“ Eigenschaften der Sulfobetaine<sup>73,75</sup> können als Vorteil ausgenutzt werden.

Besonders diese Möglichkeit zur Modifikation kann als Ausgang für weitere Unterprojekte fungieren, in denen auch Hydrogele in den Dimensionen dieser Arbeit verwendet werden könnten. So sind Arbeiten bezüglich einer direkten Anbindung an eine extrazelluläre Matrix (ECM) über „*click*“-Chemie<sup>398</sup> und aus dem Bereich „*Protein-Engineering*“ denkbar. Auch der Bereich der Oberflächenmodifikation zur besseren Interaktion mit Zellen ist dabei ein potenzielles Aufgabengebiet.<sup>399</sup> Beispielsweise ist hier auch die Modifikation mit elektrogeladenem Sulfobetainpolymer oder anderen Geflechtern denkbar.<sup>400</sup> Generell steht eine Art Baukastenprinzip für selektive Wechselwirkungen im Mittelpunkt. Konkret meint dies, dass die beiden gut bindenden Sequenzen GQSEKHL oder QQTNWSL als Linker zwischen Hydrogel und aktive Spezies fungieren kann. Bei der Auswahl der aktiven Spezies wäre formal gesehen keine Grenze zu setzen. Beispielsweise sind Peptidsequenzen bekannt, welche selektiv an anorganische Oberflächen binden.<sup>401,402</sup> So ist z.B. das SN<sub>A</sub>15 mit einer Affinität zum HAP bekannt.<sup>403–405</sup> Diese zumeist größeren Proteine könnten über „*sortase-mediated ligation*“ (SML)<sup>406</sup> oder „*sortagging*“<sup>407</sup> auf die Oberfläche gebracht werden. Vereinfacht gesagt, handelt es sich bei der Sortase um Enzyme zur Verknüpfung von Proteinen.

Mit dieser Methode könnten dann Schichtsysteme aus Netzwerk und anorg. Komponenten aufgebaut werden, welche das Themengebiet der Batterien öffnen. Alternativ könnten stationäre Phasen für die Affinitätschromatographie entwickelt werden, welche die bisherigen Systeme aus Dextran oder quervernetzte Agarose verbessern könnten. Ferner können chromatographische Grundprinzipien zur Aufreinigung von Trinkwasser verwendet werden. So sind Polyzwitterionen bekannt für Ionenaustauscher und zur Chelatisierung von z.B. Spurenelementen.<sup>69</sup> Dies könnte mittels Proteine weiter spezifiziert werden.

Diese Mikro- bzw. Nanogele<sup>388–390</sup> müssen nicht ausschließlich zur Einkapslung von Medikamenten verwendet werden. Vielmehr wäre eine komplett biologische Ausrichtung denkbar. Zum Beispiel könnten über diese Systeme Kompartimente für Zellen oder sogar Stammzellen, welche sich noch nicht in eine Körperzelle differenziert haben, geschaffen werden.<sup>408</sup> Diese können als Lagerungsort der Stammzellen angesehen werden, welcher

Gegenstand der Forschung ist. Das Zellen in das Hydrogel hineinwandern, konnte anhand der Saos2 Zellen (Kapitel 4.3.7) bestätigt werden.

Dabei ist auch hier eine Limitierung auf Mikro-bzw. Nanogele<sup>388-390</sup> nicht gegeben. Vielmehr könnten über 3D-Druckverfahren wie Stereolithographie (SLA) oder das „Inkjet“-Verfahren (vgl. Kapitel 4.4.5) die serienmäßige Herstellung von jeder gewünschten Form zugänglich gemacht werden. Im Spezialfall könnten die Zellen unmittelbar in den Druckprozess mit eingebunden werden.

Zudem könnten Grundlagenforschung im Bereich der physikalischen Eigenschaften und Strukturbildung von Polyzwitterionen und der Alterung<sup>409</sup> über Esterhydrolyse das Projekt ergänzen.

Eine Entwicklung eines Projektes auf Basis eines Hydrogels aus dem Sulfobetain SPE und dem Vernetzer TMBEMPA/Br wäre daher erstrebenswert und kann durch Vergleichssysteme mit neutralen Vernetzer, z.B. 1,4-Butandiolmethacrylat (BDDMA), gezielt unterstützt werden.

## 7. Experimentelle Methodik

In diesem Abschnitt sollen die einzelnen Synthesen und die Charakterisierung der Produkte aufgeführt werden.

### 7.1 Synthese und Charakterisierung des Vernetzers TMBEMPA/Br

Die Synthese des Vernetzers TMBEMPA/Br wurde bereits in der Masterarbeit erarbeitet.<sup>211</sup> Die Charakterisierung der Struktur erfolgte vorrangig mittels EA, MS, <sup>1</sup>H-NMR. Zur Ergänzung wurden außerdem TGA und XRD Messungen durchgeführt. Gegenstand dieser Dissertation war es die Synthese hinsichtlich des verwendeten Lösungsmittels und dessen Reinheit weiter zu optimieren. Außerdem sollte das Löslichkeitsverhalten analysiert werden.

#### 7.1.1 Verwendete Geräte

- Feinwaage von Mettler Toledo Modell New Classic MS ( $d = \pm 0,1$  mg)
- magnetisches Heiz- und Rührwerk von Heidolph Modell MR Hei-Standard
- Thermofühler von Heidolph Modell EKT Hei-Con
- 100 mL Einhalskolben mit Rührmagnet, Septum und Wasserbad
- 1-5 mL Eppendorfpipette
- 10 mL Spritze Injekt® von B.Braun
- Kanüle 100 Sterican® Ø 0,80 \* 120 mm 21G \* 4 ¾ von B. Braun

#### 7.1.2 Verwendete Chemikalien

- 2-Dimethylaminoethyl)methacrylat (DMAEMA) stabilisiert mit Hydrochinonmonomethylether *for synthesis* von Merck (CAS: 2867-47-2)
- 1,3-Dibrompropan 98 % von Alfa Aesar (CAS: 109-64-8)
- Dimethylformamid (DMF) zur Synthese mit Wasser < 150 ppm von VWR Prolabo (CAS: 68-12-2)
- Dimethylsulfoxid (DMSO) ROTIPURAN® ≥ 99,8% p.a., 0,05 % H<sub>2</sub>O von Carl Roth (CAS: 67-68-5)
- Aceton RECTAPUR von VWR (CAS: 67-64-1)
- Methyl-*tert*-butylether (MTBE) 99% von Alfa Aesar (CAS: 1634-04-4)

### 7.1.3 Durchführung

**Tabelle 7.1. 1:** Ansatzgröße für die Synthese von TMBEMPA/Br.

Chemikalie	M [g/mol]	Dichte [25°C]	Äq	n [mmol]	m [g]	V [mL]
DMAEMA $C_8H_{15}O_2N$	157,21	0,93- 0,934	2	100	15,721	16,85
1,3-Dibromopropan $Br(CH_2)_3Br$	201,9	1,989	1	50	10,0945	5,07
DMF $C_3H_7NO$	73,09	0,949	/	/	/	20
Aceton $C_3H_6O$	58,08	0,79?	/	/	/	2 x 250
MTBE $C_5H_{12}O$	88,15	0,74	/	/	/	2 x 250

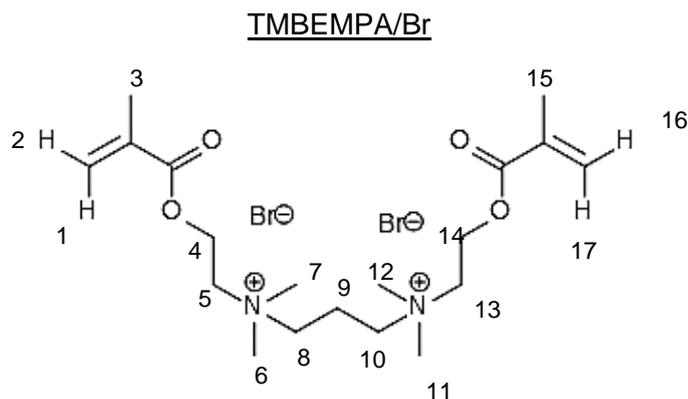
In einen 100 mL Rundkolben werden DMAEMA (**1**) (100 mmol, 16,89 mL, 2 äq) und 1,3-Dibromopropan (**2**) (50 mmol, 5,07 mL, 1 äq) in 20 mL DMF gelöst. Die leicht gelbliche Reaktionsmischung im verschlossenen Kolben wird in einem Wasserbad bei 30°C für 30 min gerührt und anschließend auf RT abgekühlt. Das Ausfällen des Rohproduktes erfolgt dann unter Rühren über Nacht. Dieses wird 2x mit jeweils 250 mL Aceton und 2x mit 250 mL MTBE gewaschen. Der erhaltene weiße Feststoff wird über Nacht unter Vakuum getrocknet.

Die beschriebene Reaktion kann ebenfalls in 20 mL DMSO durchgeführt werden. Über Nacht bei RT kommt es zur Bildung einer hoch viskosen und gelblichen Flüssigkeit. Das Produkt kann dann durch Ausfällen in Aceton erhalten werden. Wasch- und Trocknungsprozess erfolgt dann analog.

### 7.1.4 Charakterisierung

#### Löslichkeit

Zur Analyse der Löslichkeit wurden zu 1 mg TMBEMPA/Br 1 mL Lösungsmittel gegeben und das Lösungsverhalten nach 1 h und 24 h dokumentiert. Das TMBEMPA/Br ist gut löslich in Wasser, Methanol, Toluol, Chloroform, Dihlormethan, Dimethylsulfoxid und Acetonitril. In *n*-Hexan, Diethylether, Tetrahydrofuran, 1,-Dioxan, Ethylacett, Methyl-*tert*-butylether, Aceton und Dimethylformamid könnte keine Löslichkeit dokumentiert werden. Anzumerken ist jedoch eine geringe Teillösung in Abhängigkeit vom Wasseranteil im betrachteten Lösungsmittel.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm):

1,88 (s, 3-H), dqtt,  $J = 6,22; 5,27; 5,27; 5,27; 3,58; 3,58; 2,64; 2,64$  Hz, 9-H); 3,21 (s, 6-H, 7-H, 11-H, 12-H), 3,42 – 3,56 (m, 8-H, 10-H), 3,81 (dt,  $J = 4,66; 2,28$  Hz, 5-H, 13-H), 4,6 (br. s., 4-H, 14-H), 5,67 – 5,78 (m, 2-H, 16-H), 6,1 (d,  $J = 0,94$  Hz, 1-H, 17-H)

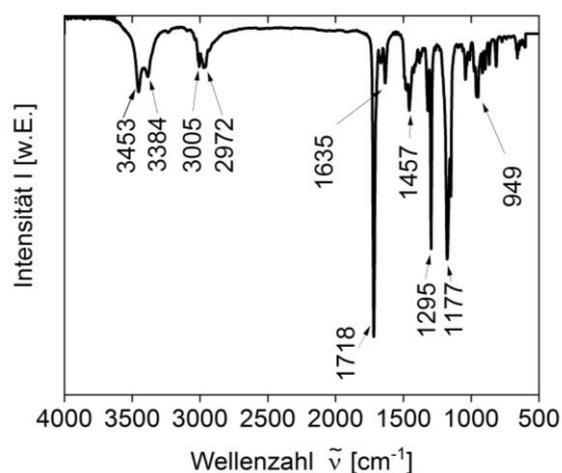
MS (ESI) in  $\text{H}_2\text{O}$ :

Molekülionenpeak [M] und  $[\text{M}+\text{H}]^+$  bei 516,308 m/z experimentell nicht ermittelt.

Basispeak bei 435,18 m/z u. 437,18 m/z für das Fragment ohne 1 Br:  $[\text{M}]-\text{Br}$  und  $[\text{M}+\text{H}]^+-\text{Br}$ .

ATR-IR ( $\tilde{\nu}$  in  $\text{cm}^{-1}$ ) Ge-Kristall:

3453 und 3384 (Steckschwingung von Kristallwasser, N-H-Schwingung), 3005 und 2972 (C-H-Streckschwingung der Doppelbindung und C-H Streckschwingung), 1718 (C=O Streckschwingung; Ester des Methacrylats), 1635 (C=C Streckschwingung), 1635 (CNH Schwingung und C=C Streckschwingung), 1456 (C-H-Deformationsschwingung), 1424 ( $=\text{CH}_2$  Deformationsschwingung), 1380, 1320 ( $=\text{CH}$  Schaukelschwingung des Methacrylats), 1295 und 1177 (C-O-C Streckschwingung des Methacrylats), 1150, 1042 (C-C Streckschwingung), 1011 (Gerüstschwingung des Methacrylats), 977, 961, 949 ( $=\text{CH}_2$  Molekülschwingung), 917, 897, 866, 816 (Gerüstschwingung des Methacrylats), 660 (C-O Deformationsschwingung).



**Abbildung 7. 1:** IR-Spektrum des Vernetzers TMBEMPA/Br.

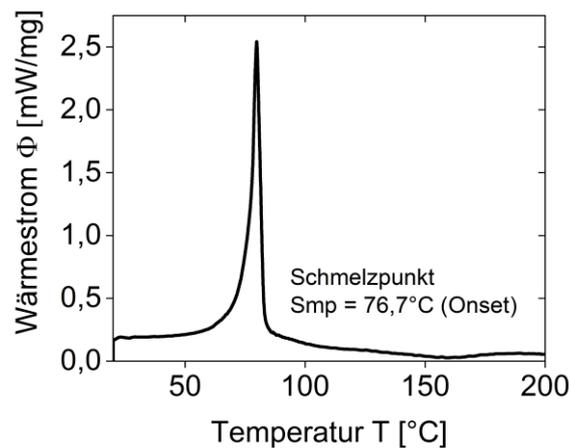
Elementaranalyse: C: 43,64 %, H: 6,94 %, N: 6,43 %, O + Br: 43 % (experimentell)

C: 44,2 %, H: 7,03 %, N: 5,43 %, O: 12,4 %, Br: 30,95 %

(berechnet für  $C_{19}H_{36}Br_2N_2O_4$ )

Thermische Analyse mittels DSC:

Schmelzpunkt Smp (onset): 76,7°C



**Abbildung 7. 2:** Thermogramm des Vernetzers TMBEMPA/Br im Temperaturbereich 0 bis 200°C.

## 7.2 Synthese der Hydrogele über eine thermisch initiierte freie radikalische Polymerisation

Die Initiatarbeit bezüglich der Synthese der Hydrogele auf Polyelektrolytbasis wurde bereits in der Masterarbeit durchgeführt.<sup>211</sup> Dabei wurde sich jedoch auf ein Verhältnis vom Monomer zum Vernetzer in der Stammlösung von 6:1 beschränkt. Die optimierte Synthesestrategie in einem Trockenschrank und Analytik bezüglich ergänzender Verhältnisse erfolgte im Rahmen dieser Dissertation.

### 7.2.1 Verwendete Geräte

- Feinwaage von Mettler Toledo Modell New Classic MS ( $d = \pm 0,1$  mg)
- Trockenschrank Memmert UF55Plus
- 1-5 mL Eppendorf Pipette, 100-1000  $\mu$ L Eppendorf Pipette
- Kanüle 100 Sterican®  $\varnothing$  0,80 \* 120 mm 21G \* 4  $\frac{3}{4}$ '' von B. Braun
- 20 mL Samco™ Bio-Tite™ Specimen Containers aus PP von ThermoScientific
- Schraubdeckelgläser 100 mL aus PP mit HDPE-Schraubverschluss von Carl Roth

### 7.2.2. Verwendete Chemikalien

- TMBEMPA/Br (s. Kapitel 7.1)
- N-(3-Sulfopropyl)-N-methacroyloxyethyl-N,N-dimethylammonium betain (SMAEMA) zur Synthese von Merck (CAS: 3637-26-1)
- Kaliumsalz vom 3-Sulfopropylmethacrylat (SPM) 98 % von Sigma Aldrich (CAS: 31098-21-2)
- [2-(Methacryloyloxy)ethyl] trimethylammoniumchlorid (TMAEMA) 80 wt. % in Wasser von Sigma Aldrich (CAS: 5039-78-1)
- Kaliumperoxodisulfat (KPDS)  $\geq 99$  % von Fluka Analytical (CAS: 7727-21-1)

### 7.2.3 Durchführung

Für die Synthese der Polymergele werden zu Beginn der Vernetzer (**3**) und das jeweilige Monomer entsprechend der nachfolgend aufgeführten Tabelle eingewogen und in dest. Wasser gelöst. Die farblose Reaktionsmischung wird für 30 s mit Stickstoff gespült. Anschließend erfolgt die Zugabe vom Initiator KPDS. Es werden 3 mL der so vorbereiteten Lösung mittels Eppendorf-Pipette in die 20 mL Drehverschlussgefäße (Samco™ Bio-Tite™ Specimen Containers von ThermoScientific) aus PP gegeben. Das Reaktionsgefäß wird erneut mit Stickstoff gespült und verschlossen in einen Trockenschrank (Mettler UF55Plus mit Gitterrost, geschlossenes System, Lüftung 30%) mit entsprechender Temperatur gestellt. Nach beendeter Reaktion können die fertigen Gele aus der Form gedrückt und in die 100 mL Titrationsbecher aus PP mit 40 mL dest. Wasser gegeben werden.

In der nachfolgenden Tabelle sind die optimierten Ansätze der Gelsynthese zusammengefasst. Generell wurden alle Variationen von B10 bis B100 in Zehnerschritten ausprobiert. Für alle weiteren Ansätze, speziell betreffend der Optimierung der SPM und TMAEMA basierten Hydrogele, sind der Bachelorarbeit von A.C. Lehnen zu entnehmen.<sup>158</sup>

#### Hydrogel Nomenklatur

Der Buchstabe bezieht sich auf das verwendete Monomer. Dabei steht das B für das Betain SPE, S für SPM und T für TMAEMA. Die nachfolgende Nummer gibt das Verhältnis von Monomer zum Vernetzer in der Vorläuferlösung an. Beispielsweise steht die Abkürzung B10 für ein SPE basiertes Hydrogel mit einem Verhältnis von Monomer : Vernetzer von 10:1.

**Tabelle 7.2. 1:** Ansatzgrößen für die Optimierung der Gelsynthese.

Ansatz	Stoffmenge	Stoffmenge	Volumen	Stoffmenge	Temperatur	Zeit
	TMBEMPA/Br $n_v$ [mmol]	Monomer $n_M$ [mmol]	V [mL] H <sub>2</sub> O	Initiator $n_i$ [mmol]	T [°C]	t [min]
<b>B10</b>	1,2	12	H <sub>2</sub> O 7,2	0,09	70	20
<b>B50</b>	0,24	12	H <sub>2</sub> O 7,2	0,09	70	20
<b>B100</b>	0,12	12	H <sub>2</sub> O 7,2	0,09	70	20
<b>S10</b>	1,2	12	H <sub>2</sub> O 7,2	0,09	70	20
<b>S50</b>	0,24	12	H <sub>2</sub> O 7,2	0,09	70	20
<b>S100</b>	0,12	12	H <sub>2</sub> O 7,2	0,09	70	20
<b>T10</b>	1,2	12	H <sub>2</sub> O 7,2	0,09	70	55
<b>T50</b>	0,24	12	H <sub>2</sub> O 7,2	0,09	70	55
<b>T100</b>	0,12	12	H <sub>2</sub> O 7,83	0,09	70	55

#### 7.2.4 Charakterisierung

##### SPE-Gel: B10, B50, B100

##### ATR-IR ( $\tilde{\nu}$ in $\text{cm}^{-1}$ ):

3423 (Steckschwingung von Kristallwasser, N-H-Schwingung), 2985 (C-H-Schwingung der Doppelbindung und C-H Streckschwingung), 1719 (C=O Streckschwingung; Ester des Methacrylats), 1473 (C-H-Deformationsschwingung), 1168 (Schwingung der Sulfonatgruppe), 1039 (C-C Streckschwingung).

##### Elementaranalyse gesamt (gerundete Mittelwerte aus zwei Messungen):

B10: C: 40,74 %, H: 7,74 %, N: 4,43 %, S: 8,23 %, Rest (hpts. O): 38,86 %

B50: C: 41,54 %, H: 7,97 %, N: 4,44 %, S: 10,10 %, Rest (hpts. O): 35,95 %

B100: C: 41,25 %, H: 7,80 %, N: 4,39 %, S: 10,23 %, Rest (hpts. O): 36,33 %

### Elementartanalyse von S und N:

Zur Berechnung des molaren Verhältnisses von Monomer zu Vernetzer wurden Gewichtsprozent die Elemente S und N bestimmt. Daraus konnten die Masse  $m$  und die Stoffmenge  $n$  der Elemente berechnet werden. Die berechnete Stoffmenge für Schwefel  $n_S$  kann mit der Stoffmenge es SPE gleichgesetzt werden, da ein Schwefelatom pro Monomer enthalten ist. Die Stoffmenge von Stickstoff  $n_N$  muss jedoch halbiert werden, da auf ein Monomer zwei quartäre Stickstoffionen kommen. Daraus ergeben sich folgende molare Verhältnisse von Monomer zu Vernetzer für die Gele B10, B50 und B100.

B10: wt% N = 3,93, wt% S = 7,80

Daraus ergibt sich ein tatsächliches molares Verhältnis vom Monomer: Vernetzer von 14:1.

B50: wt% N = 3,81, wt% S = 8,41

Daraus ergibt sich ein tatsächliches molares Verhältnis vom Monomer: Vernetzer von 58:1.

B100: wt% N = 3,73, wt% S = 8,58

Daraus kann kein tatsächliches molares Verhältnis vom Monomer: Vernetzer berechnet werden.

Umsatz: B10: 63 %; B50: 66 %; B100: 62 %.

### **SPM-Gel: S10, S50, S100**

#### ATR-IR ( $\tilde{\nu}$ in $\text{cm}^{-1}$ ):

3348 (Steckschwingung von Kristallwasser), 2972 (C-H-Schwingung der Doppelbindung und C-H Streckschwingung), 1715 (C=O Streckschwingung; Ester des Methacrylats), 1448 (C-H-Deformationsschwingung), 1147 (Schwingung der Sulfonatgruppe), 1089, 1043 (C-C Streckschwingung), 884.

Elementaranalyse: C: 35,39 %, H: 5,71 %, N: 1,13 %, S: 10,28 %, Rest (hpts. O): 47,49 %  
(experimentell)

Umsatz: S10: 60 %.

### **TMAEMA-Gel: T10, T50, T100**

#### ATR-IR ( $\tilde{\nu}$ in $\text{cm}^{-1}$ ):

3344 (Steckschwingung von Kristallwasser, N-H-Schwingung), 2972 (C-H-Schwingung der Doppelbindung und C-H Streckschwingung), 1715 (C=O Streckschwingung; Ester des Methacrylats), 1381, 1093, 1047 1 (C-C Streckschwingung), 951, 880.

Elementaranalyse: C: 41,45 %, H: 8,53 %, N: 5,29 %, Rest (hpts. O): 44, 73 %  
(experimentell)

Umsatz: T10: 49 %.

## 7.3 Synthese der Hydrogele über eine freie radikalische Photopolymerisation

### 7.3.3 Verwendete Geräte

- Feinwaage von Mettler Toledo Modell New Classic MS ( $d = \pm 0,1$  mg)
- UV Dunkelkammer Fisher Bioblock Scientific (2x15W-365nm Tube, 2x15W-254nm Tube); Power: 120W)
- 1-5 mL Eppendorf Pipette, 100-1000  $\mu$ L Eppendorf Pipette
- Kanüle 100 Sterican®  $\varnothing$  0,80 \* 120 mm 21G \* 4  $\frac{3}{4}$ '' von B. Braun
- Petrischalen  $\varnothing$  100 und 60 mm Höhe 15 mm (EDVOTEK EUROPE LTD)
- 3D-gedruckte Reaktionsgefäße aus PP bereitgestellt durch Matthias Schneider (runde Form  $d = 1$ cm, quadratische Form 1cm Kantenlänge)

### 7.3.4 Verwendete Chemikalien

- TMBEMPA/Br (s. Kapitel 7.1)
- N-(3-Sulfopropyl)-N-methacroyloxyethyl-N,N-dimethylammonium betain (SMAEMA) zur Synthese von Merck (CAS: 3637-26-1)
- Irgacure D-2959 von Sigma-Aldrich (CAS: 106797-53-9)
- Ivocerin® von Ivoclar Vivadent verkauft durch Synthon Chemicals (CAS: 1207515-90-9)
- methacrylierte Gelatine GM10 bereitgestellt durch Lisa Rebers (Methacrylierungsgrad 1,02 mmol/g)

### 7.3.5 Durchführung

- a) Synthese von Hydrogelenmembranen mit einem Durchmesser von 7,7 cm und einer Dicke von 0,5 cm

Für die Synthese der Polymergele werden zu Beginn der Vernetzer und SPE entsprechend der nachfolgend aufgeführten Tabelle eingewogen und in dest. Wasser gelöst. Die farblose Reaktionsmischung wird für 30 s mit Stickstoff gespült. Anschließend erfolgt die Zugabe vom Initiator Irgacure D-2959. Es werden 3 mL der so vorbereiteten Lösung mittels Eppendorf-Pipette in die Petrischalen mit 60 mm Durchmesser und einer Höhe von 15 mm gegeben. Das Reaktionsgefäß wird erneut mit Stickstoff gespült und in eine UV Dunkelkammer (Fisher Bioblock Scientific, 254 und 365 nm) gestellt. Nach beendeter Reaktion können die fertigen Gele aus der Form gedrückt und in die Petrischalen mit 100 mm Durchmesser und einer Höhe von 15 mm mit dest. Wasser gegeben werden.

In der nachfolgenden Tabelle sind die optimierten Ansätze der Gelsynthese zusammengefasst. Weitere Ansätze mit 7,2 mL H<sub>2</sub>O und eine Erhöhung der Stoffmenge des Initiators lieferten keine stabilen Hydrogele. Auch der direkte Austausch des Lösungsmittels durch ein org. Lösungsmittel wie Methanol oder Acetonitril führten zu keiner stabilen Membran.

**Tabelle 7.3. 1:** Optimierte Ansatzgrößen für die Hydrogelsynthese mittels freier radikalischer Photopolymerisation.

<b>Ansatz</b>	<b>Stoffmenge TMBEMPA/Br n<sub>v</sub> [mmol]</b>	<b>Stoffmenge Monomer n<sub>M</sub> [mmol]</b>	<b>Volumen V [mL]</b>	<b>Stoffmenge Initiator n<sub>i</sub> [mmol]</b>	<b>Zeit t [min]</b>
<b>photoB10</b>	1,2	12	H <sub>2</sub> O 3,6	0,09	10
<b>photoB50</b>	0,24	12	H <sub>2</sub> O 3,6	0,09	10
<b>photoB100</b>	0,12	12	H <sub>2</sub> O 3,6	0,09	10

#### **Charakterisierung von photoB50:**

##### Elementaranalyse:

photoB50: C: 40,62 %, H: 7,76 %, N: 4,33 %, S: 9,70 %, Rest (hpts. O): 37,59 % (experimentell)

##### ATR-IR ( $\tilde{\nu}$ in cm<sup>-1</sup>):

3423 (Steckschwingung von Kristallwasser, N-H-Schwingung), 3038 und 2978 (C-H-Schwingung der Doppelbindung und C-H Streckschwingung, asym. N-H Streckschwingung), 1722 (C=O Streckschwingung; Ester des Methacrylats), 1649 (O-H Steckschwingung), 1480 (C-H und C-C Schwingung), 1167 (C-N Streckschwingung), 1035 (Schwingung der SO<sub>3</sub><sup>-</sup>), 963, 930, 794, 727, 601 und 522 (C-H und C-C Schwingung).

#### b) Synthese von Hydrogelmembranen mit SPE und methacrylierter Gelatine

In analoger Weise können Hydrogelmembranen synthetisiert werden, welche als chem. Vernetzer methacrylierte Gelatine enthalten. Die optimierte Synthese ist in der nachfolgenden Tabelle zusammengefasst. Dabei ist anzumerken, dass keine stabilen Membranen synthetisiert werden konnten, wenn ausschließlich die methacrylierte Gelatine ohne zusätzliches Monomer verwendet wurde.

**Tabelle 7.3. 2:** Optimierte Ansatzgrößen für die Hydrogelsynthese mit methacrylierter Gelatine über eine freie radikalischer Photopolymerisation.

Ansatz	Masse methacrylierte Gelatine* $m_G$ [mg]	Stoffmenge Monomer $n_M$ [mmol]	Volumen V [mL] H <sub>2</sub> O	Stoffmenge Initiator $n_I$ [mmol]	Zeit t [min]
<b>Gem100</b>	117 mg	12	4	0,09	10
<b>Gem50</b>	233 mg	12	4	0,09	10

\*- Methacrylierungsgrad: 1,03 mmol/g

### Charakterisierung:

#### Elementaranalyse:

Gem4: C: 40,89 %, H: 7,68 %, N: 4,70 %, S: 9,97 %, Rest (hpts. O): 36,76 % (experimentell)

Gem8: C: 41,03 %, H: 7,70 %, N: 5,06 %, S: 9,60 %, Rest (hpts. O): 36,61 % (experimentell)

#### c) Synthese für den direkten 3D-Druck mittels Stereolithographie

Die Reaktionslösung wurde entsprechend der unter a) aufgeführten Zusammensetzung vorbereitet. Lediglich der Initiator wurde durch das Ivocerin® (Ivoclar Vivadent) ausgetauscht. Im Nachbelichter von Formlabs (Form Cure) erfolgt dann die Gelierung nach 3-5 min je nach Ansatz. Der Austausch gegen ein org. LM lieferte keine Verbesserung.

## 7.4 Synthese der Hydrogele über eine redoxinitiierte freie radikalische Polymerisation

### 7.4.3 Verwendete Geräte

- Feinwaage von Mettler Toledo Modell New Classic MS ( $d = \pm 0,1$  mg)
- 1-5 mL Eppendorf Pipette
- Kanüle 100 Sterican® Ø 0,80 \* 120 mm 21G \* 4 ¾'' von B. Braun
- Schraubdeckelgläser 100 mL aus PP mit HDPE-Schraubverschluss von Carl Roth
- Schraubdeckelgläser 60 mL aus PP mit HDPE-Schraubverschluss von Carl Roth
- Tiefkühler Comfort von Liebherr

#### 7.4.4 Verwendete Chemikalien

- TMBEMPA/Br (s. Kapitel 7.1)
- N-(3-Sulfopropyl)-N-methacroyloxyethyl-N,N-dimethylammonium betain (SMAEMA) zur Synthese von Merck (CAS: 3637-26-1)
- Tetramethylethyldiamin Reagent Plus® 99 % (TMEDA) von Sigma Aldrich (CAS: 110-18-9)
- Kaliumperoxodisulfat (KPDS) ≥ 99 % von Fluka Analytical (CAS: 7727-21-1)

#### 7.4.5 Durchführung

Der chemische Vernetzer TMBEMPA/Br (0,12 mmol, 0,0612 g) und das Monomer SPE (4 mmol, 1,1175 g) werden in 2,6 mL destilliertem Wasser gelöst. Nach 30 s spülen mit Stickstoff wird der Polymerisationskatalysator TMEDA (50 µL) hinzugegeben. In einem separaten Gefäß wird der Initiator KPDS (0,02 mmol, 5,4 mg) in 1 mL destilliertem Wasser gelöst. Anschließend werden beide Lösungen vereint. 3 mL dieser Vorläuferlösung werden in ein Rollrandglas gegeben und für drei Tage in den Tiefkühlschrank bei -32 °C gestellt. Eine analoge Synthese kann bei Raumtemperatur in 20 min durchgeführt werden.

#### Netzwerk Nomenklatur

Die Synthese der Netzwerke durchgeführt bei -32°C werden als Kryo-Gel bezeichnet. Als Redox-Gel werden solche Netzwerke benannt, die bei RT für 20 min synthetisiert wurden.

**Tabelle 7.4. 1:** Ansatzgrößen für die Hydrogelsynthese mittels redoxinitiiertes freier radikalischer Polymerisation. Alle Ansätze liefern Kryogele, jedoch wurde für weitere Messungen lediglich Ansatz 1 aufgrund von Stabilitätsunterschieden verwendet.

Ansatz	Stoffmenge TMBEMPA/Br $n_V$ [mmol]	Stoffmenge Monomer $n_M$ [mmol]	Volumen V [mL] H <sub>2</sub> O	Stoffmenge Initiator $n_I$ [mmol]	Volumen Polymeri- sations- katalysator $V_{\text{TMEDA}}$ [µL]	Zeit t [d]
1	0,12	4	3,6	0,02	50	3
2	0,12	4	7,2	0,02	50	3
3	0,24	4	3,6	0,02	50	3

## 7.4.4 Charakterisierung

### Elementaranalyse:

Kryo-Gel: C: 41,17 %, H: 7,85 %, N: 4,37 %, S: 9,70 %, Rest (hpts. O): 36,91 % (experimentell)

Redox-Gel: C: 40,17 %, H: 8,02 %, N: 4,28 %, S: 9,33 %, Rest (hpts. O): 38,20 % (experimentell)

### ATR-IR ( $\tilde{\nu}$ in $\text{cm}^{-1}$ ):

Kryo-Gel: 3429 (O-H Streckschwingung von Wasser), 3039 und 2981 (asym. N-H Streckschwingung und C-H Streckschwingung von C=C Doppelbindungen von nicht umgesetzten Monomer- bzw. Vernetzermolekülen), 1721 (Carbonylgruppe), 1660 (O-H Streckschwingung von Wasser), 1479 (C-H und C-C Gerüstschwingung des Netzwerks), 1167 (C-N Streckschwingung), 1034 (Schwingung der  $\text{SO}_3^-$ -Gruppen), 963-522 (C-H und C-C Gerüstschwingung des Netzwerks).

Redox-Gel: 3416 (O-H Streckschwingung von Wasser), 3033 und 2981 (asym. N-H Streckschwingung und C-H Streckschwingung von C=C Doppelbindungen von nicht umgesetztem Monomer bzw. Vernetzer), 1722 (Carbonylgruppe), 1647 (O-H Streckschwingung von Wasser), 1481 (C-H und C-C Gerüstschwingung des Netzwerks), 1170 (C-N Streckschwingung), 1036 (Schwingung der  $\text{SO}_3^-$ -Gruppen), 961-521 (C-H und C-C Gerüstschwingung des Netzwerks).

## 7.5 Strategien zur Mineralisation von Calciumphosphat

### 7.5.4 Verwendete Geräte

- Feinwaage von Mettler Toledo Modell New Classic MS ( $d = \pm 0,1 \text{ mg}$ )
- Schraubdeckelgläser 100 mL aus PP mit HDPE-Schraubverschluss von Carl Roth

### 7.5.5 Verwendete Chemikalien

- optimierte Hydrogele B10, B50 und B100 (Kapitel 7.2)
- Calciumchlorid-Dihydrat von Carl Roth (CAS: 10035-04-8)
- Sørensenpuffer Teil A: Kaliumdihydrogenphosphat von Sigma Life Science (CAS: 7778-77-0)
- Sørensenpuffer Teil B : Natriumhydrogenphosphat Dihydrat von Fluka Analytical (CAS: 10028-24-7)

### 7.5.6 Durchführung

Zur Mineralisation der Hydrogele wurden die Parameter pH-Wert, Reihenfolge Konzentration und Temperatur analysiert. Als  $\text{Ca}^{2+}$ -Quelle dienten  $\text{CaCl}_2$  Lösungen und als  $\text{PO}_4^{3-}$ -Quelle ein Sørensenpuffer. Dieser setzt sich aus einer basischen und einer sauren Teillösung zusammen (Tabelle 7.5. 1).

**Tabelle 7.5. 1:** Zusammensetzung des Sørensenpuffers für 1000 mL pro Teillösung.<sup>410</sup>

Teillösung	Chemikalie	M [g/mol]	n [mol]	m [g]	c [mol/L]
A (sauer) pH ~ 4,5	Kaliumdihydrogenphosphat $\text{KH}_2\text{PO}_4$	136,09	0,067	9,072	0,067
B (basisch) pH ~ 9,2	Natriumhydrogenphosphat Dihydrat $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	177,99	0,067	11,866	0,067

Generell wurden die Hydrogele abwechselnd für 24 h in eine der Lösungen gelegt. Vor dem Lösungsaustausch erfolgte ein Waschschrift mit Reinstwasser. Die mineralisierten Gele wurden anschließend für 24 h in Reinstwasser gequollen. Für die anschließende Analytik erfolgte die Trocknung bei RT für sieben Tage.

#### Mineralisation in Abhängigkeit vom pH-Wert

Die Einwaagen der Teillösungen werden jeweils in 1000 mL dest. Wasser gelöst. Anschließend können beliebige pH-Werte im Bereich von ungefähr 4-9 durch verschiedene Mischungsverhältnisse der Teillösungen frisch hergestellt werden. Für die Mineralisation wurden hier die pH-Werte 5-9 und 7,42 (analog 2 SBF) ausgewählt.

#### Mineralisation in Abhängigkeit von der Konzentration

Um den Einfluss der Konzentration auf die Mineralisation analysieren zu können wurden Lösungen mit 0,1 mol/L und 0,5 mol/L verwendet. Als pH- Wert wurde 7,42 eingestellt.

#### Mineralisation in Abhängigkeit von der Temperatur

Um den Einfluss der Temperatur auf die Mineralisation analysieren zu können, wurden die Lösungen zunächst auf 37°C erwärmt. Die Mineralisation erfolgte dann im Trockenschrank (Memmert UF55Plus mit Gitterrost, geschlossenes System, Lüftung 30%) bei 37°C.

## 7.6 Strategien der Mineralisation von Calciumcarbonat

### 7.6.4 Verwendete Geräte

- Feinwaage von Mettler Toledo Modell New Classic MS ( $d = \pm 0,1 \text{ mg}$ )
- Schraubdeckelgläser 100 mL aus PP mit HDPE-Schraubverschluss von Carl Roth

### 7.6.5 Verwendete Chemikalien

- optimierte Hydrogele B10, B50 und B100 (Kapitel 7.2)
- Calciumchlorid-Dihydrat von Carl Roth (CAS: 10035-04-8)
- Natriumcarbonat wasserfrei  $\geq 98,8 \%$  p.a. ACS ISO von Carl Roth (CAS:497-19-8)

### 7.6.6 Durchführung

Die synthetisierten Hydrogele werden wie bereits im Kapitel 7.3 beschrieben in 0,1 M Calciumchloridlösung gequollen und gewaschen. Anschließend erfolgt der Austausch der Lösungen durch 40 mL 0,1 M Natriumcarbonatlösung. Außerdem erfolgt die Mineralisation *vice versa*. Zudem wurde die Mineralisation bei 37°C und mit 0,5 M Lösungen durchgeführt. Alles weitere erfolgt analog zu dem bisher Beschriebenen.

## 8. Charakterisierungsmethoden

In diesem Kapitel werden die experimentellen Parameter der verwendeten Messmethoden beschrieben. In einigen Fällen wurden in Abhängigkeit von der Mineralisationsstrategie verschiedene Geräte bzw. Einstellungen verwendet. Die Mineralisation erfolgt entweder direkt in einer Lösung oder im Hydrogelen. Unter diesen Umständen ist als Zwischentitel „In Lösung“ bzw. „Im Hydrogel“ gewählt worden. Außerdem erfolgt die Beschreibung von anwendungsorientierten Versuchsaufbauten.

### 8.1 Bestimmung der Struktur

#### 8.1.1 Elementaranalyse (EA)

Die Elementaranalyse erfolgte als Servicemessung an der Universität Potsdam im AK Linker. Dazu wurden ca. 2-3 mg pro Messung mittels einem Elementar Vario EL vermessen. Berücksichtigt wurden ausschließlich die Elemente Kohlenstoff (C), Wasserstoff (H) Stickstoff (N) und Schwefel (S). „Mikroanalytisches Laboratorium KOLBE<sub>(Nachf.)</sub>“ hat zudem eine weitere Bestimmung der Elemente S und N für die getrockneten Proben B10, B50 und B100 durchgeführt.

#### 8.1.2 Infrarotspektroskopie (IR)/ abgeschwächte Totalreflexion (ATR/IR)

Die Messungen der IR-Spektren erfolgten auf einem Nicolet iS5 (Thermo Scientific, Waltham MA, USA) mit ATR-Einheit (iD7) und Diamant bzw. Germanium Kristall von 400 bis 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Alle Spektren wurden mit 32 scans und einer Auflösung von 4  $\text{cm}^{-1}$  aufgenommen. Die Auswertung der Spektren erfolgte über das Programm „OMNIC 9.8.372 (Thermo Electron Corp., Waltham MA, USA).“

#### 8.1.3 Kernspinresonanzspektroskopie ( $^1\text{H-NMR}$ und $^{13}\text{C-NMR}$ )

Die Messung der NMR-Spektren erfolgte als Servicemessung an der Universität Potsdam mittels eines „Bruker Avance 300“ Spektrometers. Durchgeführt wurden die Messungen von Dr. M. Heydenreich und A. Krititschka des AK Möller. Deuteriertes Wasser (TMBEMPA/Br) und deuteriertes DMSO (Peptide) wurden hierbei als Referenzlösungsmittel verwendet. Die Auswertung erfolgte jeweils über das Programm „ACD/NMR Processor Academic Edition“.

## 8.2 Charakterisierung der Gelierung

### 8.2.1 Umgekehrte Röhrenmethode

Die Gelierungszeit wurde mittels umgekehrter Röhrenmethode<sup>212,213</sup> bestimmt. Dazu wurden 0,1 mL der mit Stickstoffgas gespülten Vorläuferlösung in ein Teströhrchen überführt. Anschließend wurde das verschlossene Gefäß in ein auf 70°C vorerhitztes Wasserbad gehängt. Alle 30 s wurde das Reaktionsgefäß auf den Kopf gestellt. Als Gelierungszeit ist die Zeit definiert, zu welcher die Lösung nicht mehr aufgrund der Schwerkraft (makroskopisch) fließt. Zur Einschätzung der Reproduzierbarkeit erfolgte eine neunfache Wiederholung dieser Messung.

### 8.2.2 SAXS

Die Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS) wurde in der AG Thünemann mit Dr. Brademann-Jock und Frau Fengler an der BAM durchgeführt. Verwendet wurde ein Gerät des Typs Kraftky (SAXSess, Anton Paar, Austria) mit einem Probenhalter für Feststoffe. Durchgeführt wurden die Messungen bei  $(21 \pm 1)^\circ\text{C}$  mit einem geringen Probe-zu-Detektor Abstand von 0,309 m, welcher es ermöglicht auch gering streuende Proben untersuchen zu können. Die Reaktionslösung wurden wie in Kapitel 7.2 beschrieben synthetisiert und direkt für 1 h vermessen. Der erhaltene Streuvektor  $q$  wird beschrieben durch den Streuwinkel  $2\theta$  und die Wellenlänge der Strahlung  $\lambda = 0.154 \text{ nm}$ . Daraus ergibt sich der Streuvektor  $q = 4 \pi/\lambda \sin(\theta)$ . Sowohl die „*deconvolution*“ („*slit length desmearing*“) durch die SAXS-Quant Software (Anton Paar, Austria) und die nachfolgenden Auftragungen wurden von Dr. Thünemann durchgeführt.

### 8.2.3 Zeitaufgelöste dynamische Lichtstreuung

Die zeitaufgelöste dynamische Lichtstreuung wurde in der AG Thünemann mit Dr. Brademann-Jock und Frau Fengler an der BAM durchgeführt. Verwendet wurde ein ALV/CGS-3 „*Compact Goniometer System*“, ein ALV-7004 „*Digital Multiple Tau Real Time Correlator*“ und ein ALV/LSE-5004 „*Light Scattering electronics and Multiple Tau Digital Correlation*“. Zur Temperierung auf ca. 60°C (genau 59,68°C) wurde ein Julabo F-25 genutzt. Für 2 h erfolgte alle 60 s die Messwertaufnahme. Dabei wurden in den Winkeln 17, 34 51 68 85 102 119 136° detektiert.

## 8.3 Qualitative und quantitative Charakterisierung der Netzwerkstruktur

### 8.3.1 Rasterelektronenmikroskopie unter Tiefkühlbedingungen (Kryo-REM)

Die Aufnahme der Bilder mittels Kryo-REM erfolgte in der AG Koetz durchgeführt von Frau Dr. Tiersch und Frau Rüstig. Die Proben wurden zunächst in flüssigem Stickstoff eingefroren und anschließend in der Gefrierätzanlage BAF 400T (BALTEC) behandelt. Dabei betrug die Ätzungszeit 45 s bei  $-97^{\circ}\text{C}$  und die Bruchtemperatur  $-145^{\circ}\text{C}$ . Die anschließende Bedampfung mit Platin erfolgte innerhalb 120 s. Für die Bildaufnahme wurde ein Hitachi S-4800 bei 2 kV verwendet. Dazu wurde die präparierte Probe auf eine Hohlspindel als Probenhalter gegeben. Die Objektstichtemperatur betrug  $-120^{\circ}\text{C}$ .

### 8.3.2 Röntgenkleinwinkelstreuung

Die Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS) wurde in der AG Thünemann mit Dr. Brademann-Jock und Frau Fengler an der BAM durchgeführt. Verwendet wurde ein Gerät des Typs Kraftky (SAXSess, Anton Paar, Austria) mit einem Probenhalter für Feststoffe. Durchgeführt wurden die Messungen bei  $(21 \pm 1)^{\circ}\text{C}$  mit einem geringen Probe-zu-Detektor Abstand von 0,309 m, welcher es ermöglicht auch gering streuende Proben untersuchen zu können. Die Proben wurden wie in Kapitel 7.2 beschrieben synthetisiert und direkt für 1 h vermessen. Der erhaltene Streuvektor  $q$  wird beschrieben durch den Streuwinkel  $2\theta$  und die Wellenlänge der Strahlung  $\lambda = 0.154 \text{ nm}$ . Daraus ergibt sich der Streuvektor  $q = 4 \pi/\lambda \sin(\theta)$ . Sowohl die „*deconvolution*“ („*slit length desmearing*“) durch die SAXS-Quant Software (Anton Paar, Austria) und die nachfolgenden Auftragungen wurden von Dr. Thünemann durchgeführt.

### 8.3.3 Niederfeld-NMR-Spektroskopie

Für die Messungen mittels Niederfeld-NMR Spektroskopie wurde die Hydrogele wie in Kapitel 7.2 beschrieben synthetisiert. Lediglich das Lösungsmittel  $\text{H}_2\text{O}$  wurde durch deuteriertes Wasser  $\text{D}_2\text{O}$  ersetzt. Außerdem wurden grobe Verunreinigungen aus der Vorläuferlösung durch einen Spritzenfilter ( $0,2 \mu\text{m}$  PTFE, VWR International) entfernt. Die fertigen Hydrogele wurden in 10 mm NMR-Röhrchen überführt und mit einem Überschuss an  $\text{D}_2\text{O}$  im Glas eingeschmolzen. Dabei ist unbedingt darauf zu achten, dass die Hydrogelproben keiner mech. Deformation im Probenröhrchen ausgesetzt sind, da dies Messdaten speziell Relaxationen verfälscht. Des Weiteren darf die Füllhöhe von 8 cm (gerätespezifisch) nicht überschritten werden, um eine gleichmäßige Anregungseffizienz zu gewährleisten. Dies entspricht Raumbereich in dem die Spule ein homogenes B1 Feld erzeugt.

Zur Datenaufnahme wurde ein Bruker minispec mq20 bei 20MHz verwendet. Außerdem diente eine BTVT3000 Temperatureinheit zur Regelung der Messtemperatur von 70 bzw. 100°C. 15 min dienten zur Einstellung des Gleichgewichts vor jeder Messung. Eine Erhöhung der Temperatur ist notwendig, um die Geschwindigkeit der Kettendynamik zu erhöhen. Folglich wird der Einfluss der  $T_2$  Relaxation minimiert, was ein besseres Signal zu Rausch Verhältnis zur Folge hat. Nur so konnte gewährleistet werden, dass die gemessenen Parameter auf die eingeschränkte Kettenbeweglichkeit zurückzuführen sind. Als „*recycle delay*“ wurden 0,4 s gewählt. Lediglich für die Multiquanten (MQ) NMR wurden 256 Einzelmessungen akkumuliert. Alle weiteren Messungen erfolgten mit 8 „*scans*“.

Zu Beginn der Messungen erfolgten Nutationsexperimenten für die exakte Bestimmung des 90° bzw. 180° Pulses. Als erstes wurden Sättigungserholungsexperimente (Satrec engl. „*saturation recovery*“) durchgeführt. In Abhängigkeit von einer Reihe 90° Pulse und einer variablen Wartezeit zwischen den Pulsen wurde die vollständige Sättigung aller Kernspins erzielt. Im Anschluss an einen letzten 90° Puls konnte dann die Messung von  $T_1$  durchgeführt werden. Infolge eines 90° (oder  $\pi/2$ ) kehrt der Kernspin näherungsweise exponentiell in die Gleichgewichtsmagnetisierung zurück. Dies wird als FID bezeichnet. Problem ist hierbei die Totzeit  $\tau_{rec}$ , welche für die meisten Niederfeldgeräte im Bereich von 10 bis 15  $\mu$ s liegen. Dies ist in der nachfolgenden Abbildung 8. 1 A schematisch gezeigt. Als zweites Experiment wurde ein Magic-Sandwich Echo (MSE) aufgenommen. Ziel ist es belastbare Messdaten im Bereich der Totzeit zu erhalten (Abbildung 8. 1 B). Diese Pulssequenz setzt sich aus einer Vielzahl von Pulsen mit festen Zeitintervallen dazwischen. Mittels Hahn-Echo Experiment kann  $T_2$  bestimmt werden (Abbildung 8. 1 C). Nach einem 90° Puls erfolgt der exponentielle Abfall der Magnetisierung (FID). Diesem schließt sich ein 180° Puls an, wodurch der vollständige  $T_2$  Aufbau und Abbau gemessen werden kann. Im abschließenden MQ-Experiment wird zunächst ein zeitlich etwas verlängerter MSE vorgeschaltet (MAPE-Filter). Dem schließt sich wiederum eine DQ-Anregung und Rekonversion aus einer Abfolge von Pulsen an. Im Anschluss an einen abschließenden 90° Puls erfolgte die Messwertaufnahme.



zusammengefasst. Im Kapitel 4.1.4 ist dies am Beispiel B10 gezeigt. An dieser Stelle erfolgt eine Zusammenfassung in Form von Stichpunkten bezüglich der Vorgehensweise:

- Messung der Referenzintensität  $I_{ref}$  und Intensität der Doppelquantenaufbaukurve  $I_{DQ}$
- Normierung beider Intensitäten mit anschließender Subtraktion  $I_{ref} - I_{DQ}$
- Auftragung der Differenz gegen  $\tau_{DQ}$  mit Berechnung eines Zweikomponenten exponentiellen Abfalls mit Zeitkonstanten
- Parameter gewichtete Berechnung von  $I_{\Sigma MQ}$  gemäß Gleichung 29
- Berechnung von  $I_{nDQ}$  gemäß Gleichung 30 durch Differenzbildung
- Bestimmung von  $D_{med}$  und  $\sigma$  durch Berechnung von Fitparametern in Anlehnung an Gleichung 31

## 8.4 Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften

### 8.4.1 Dynamisch-mechanische Analyse (DMA)

Die dynamisch-mechanische Analyse wurde mittels der DMA 8000 (Perkin Elmer) durchgeführt. Die Proben mit einem Durchmesser von 7 mm wurden unter Zuhilfenahme einer Stanze aus den Hydrogelen angefertigt. Eingespannt im Kompressionsaufbau wurden die Proben mit einer oszillierenden Frequenz von 1 – 30 Hz vermessen.

### 8.4.2 Rheologie

Rheologische Messungen wurden auf einem Haake Mars III (Thermo Scientific) bei 21 °C durchgeführt. Dazu wurden in einer Platte/Platte Geometrie Proben mit 19 mm im Durchmesser eingespannt und bei 1 Hz vermessen. Die Proben wurden unter Zuhilfenahme einer Stanze aus den Hydrogelen angefertigt. Aufgrund einer z.T. unebenen Oberfläche diente eine Anfangskraft von 1,2 N als Startpunkt der Messung. Eine Synärese während der Messung limitierte die Messzeit auf 120s.

## 8.5 Charakterisierung der thermischen Eigenschaften

### 8.5.1 Thermogravimetrie (TGA) und Differenz-Thermoanalyse (DTA)

Die TGA und DTA Messungen wurden mit einer Thermowaage STA PT-1600 (Linseis) durchgeführt. Dazu wurden ca. 15 mg der getrockneten Hydrogele unter synthetischer Luft im Bereich von RT bis zu 1000 °C und einer Heizrate von 10 K/min mit vermessen. Dabei diente Aluminiumoxid ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) als Referenzmaterial.

Zur Bestimmung des Wasseranteils wurde zunächst eine gravimetrische Bestimmung mit Hilfe des Trockenschanks UF55Plus (Mettler) durchgeführt. Die Proben wurden auf einen Gitterrost gestellt und für 24 h bei 40°C, einer Ventilation von 30 % im geöffneten System gelagert. Anschließend wurde verbliebenes Wasser mittels TGA unter den oben angegebenen Parametern bestimmt.

### 8.5.2 Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC)

Die DSC-Messungen wurden als Servicemessung von Stefan Mies an einer DSC 214 (Netzsch) durchgeführt. Dazu wurden ca. 10 mg der Hydrogele bzw. des TMBEMPA/Br in einem Aluminiumtiegel eingewogen und anschließend mit einem Deckel mit Loch verschlossen. Als Heizrate wurde 1, 5 und 10 K/min im Temperaturbereich von -40 bis 60 °C gewählt.

## 8.6 Mineralisationsanalytik

### 8.6.1 Optische Lichtmikroskopie und pH-Wert Messungen

Aufnahmen der optischen Lichtmikroskopie bezüglich der Mineralisationsverfolgung in Lösung und auf der Hydrogeloberfläche wurden mittels Polarisationsmikroskop (Olympus BX53M) und Kamera SC50 durchgeführt.

#### Mineralisationsverfolgung in Lösung:

In ein 50 mL Schraubdeckelgefäß aus PP wurden 10 mL vom Sørensenpuffer mit pH = 6 bzw. 7,42 mit  $c = 0,134 \text{ mol/L}$  vorgelegt. Für die Messungen bezüglich des Einflusses verschiedener Verbindungen auf die Mineralisation wurden zusätzlich 20 mg TMBEMPA/Br bzw. SPE darin gelöst. Anschließend erfolgte die Zugabe von 10 mL 0,2 mol/L  $\text{CaCl}_2$ -Lösung. Die makroskopischen Veränderungen wurden dokumentiert und die mikroskopischen Veränderungen durch Entnahme eines geringen Probenvolumens auf einen Objektträger mittels oben genanntem Polarisationsmikroskops nach 10, 30, 60, 120, 180, 240, 300 und 1440 min untersucht. Der erhaltene Feststoff wurde durch Verwendung der Zentrifuge (Hermle Z 323) bei 10.000 rpm für 10 min erhalten. Anschließend erfolgte eine Waschung mit 15 mL

Reinstwasser und erneutes zentrifugieren. Dies wurde weitere zwei Mal wiederholt. Getrocknet wurde das Rohprodukt im Vakuumtrockenschrank für drei Tage bei RT.

Für die Messung des pH-Wertes über 24 h wurde in analogvorbereitete Probengefäße die Elektrode des pH-Meters ORP PCE-228 in die Lösung getaucht. Im Anschluss an 5 min Messwertaufnahme erfolgte die Zugabe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung.

#### Mineralisationsverfolgung auf der Hydrogeloberfläche:

Analog wurde zudem die Mineralisation auf der Hydrogeloberfläche analysiert. Die Mineralisationsbedingungen sind dem Kapiteln 7.5 und 7.6 zu entnehmen. Nach Zugabe der zweiten Lösung kann dann die Mineralisation mit dem Polarisationsmikroskop dokumentiert werden.

### **8.6.2 Raman-Spektroskopie**

Die Vermessung der Hydrogele mittels Raman-Spektroskopie erfolgte als Servicemessung durch Sascha Eidner der AG Löhmannsröben an der Universität Potsdam. Die Raman-Spektroskopie erfolgte an einem konfokalen Mikroskop des Modells Witec alpha 300. Die Raman-Schwingungen wurden durch einen 532 nm Nd:YAG-Laser erzeugt. Gemessen wurde mit einem 10fach Objektiv und einem 600er bzw. 1800er Gitter (Linien pro mm).

### **8.6.3 Rasterelektronenmikroskopie (REM) und Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDXS)**

REM-Aufnahmen und die EDXS des Feststoffes aus der Lösung wurden auf einem JSM-6510 (JEOL) mit einer Wolframkathode gemacht. Dazu wurden die Proben auf einen Aluminiumprobenträger mit Kohlenstoffklebepad gegeben und mit Hilfe eines Carbon Coaters Polaron CC7650 mit Kohlenstoff bedampft. Die Messung wurde bei 1 bzw. 15 kV durchgeführt.

### **8.6.4 Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD)**

#### In Lösung

Die Diffraktogramme wurden am HZB mit einem D8 (Bruker) mit einer  $\text{Cu-K}\alpha$  Strahlung und einer Scanrate von  $0,05^\circ/\text{min}$  aufgenommen.

#### Im Hydrogel

Im Anschluss an die Mineralisation wurden die mineralisierten Hydrogele im Trockenschrank (Memmert) getrocknet und anschließend mit einem Achatmörser zu möglichst feinem Pulver zerkleinert. Die Aufnahme der Diffraktogramme wurde von Dr. Christina Günter an der Universität Potsdam als Servicemessung durchgeführt. Dazu wurde das Gerät PANalytical

Empyrean powder X-ray diffractometer mit 40kV und 40 mA und einem PIXcel1D Detektor verwendet. Röntgenspiegel dienen der Fokussierung der Cu-Strahlung ( $\lambda=1.5419 \text{ \AA}$ ). Das Diffraktogramm wurde im Bereich  $4-70^\circ$  mit einem Intervall von  $0,0131^\circ$  aufgenommen.

### **8.6.5 Trübungstitrationsen**

Die Durchführung zur Bestimmung der kritischen Calciumionenkonzentration wurde gemäß der Literatur durchgeführt.<sup>82,84</sup> Es wurde 1 mL der phosphathaltigen Komponente einer doppelt konzentrierten SBF-Lösung verwendet. Dabei handelt es sich um eine Lösung aus Salzen, die der Körperflüssigkeit nachempfunden ist, jedoch in doppelter Konzentration. Darin wurden 10 mg der Monomere gelöst. Unter Rühren erfolgt die Zugabe von 1 mL der calciumhaltigen 2SBF-Lösung. Nach 2 min rühren wurden mittels UV-Vis-Spektrometer (UV mini 1240 von Shimadzu) Spektren im Bereich  $300 \text{ bis } 1000 \text{ cm}^{-1}$  mit einer mittleren Scangeschwindigkeit aufgenommen. Nun erfolgt die Zugabe von  $0,1 \text{ mol/L CaCl}_2$ -Lösung in 20, 50 und 100  $\mu\text{L}$  Schritten. Nach jeder Zugabe wurde die Lösung 2 min gerührt und ein Spektrum aufgenommen.

### **8.6.6 Quantitative Bestimmung mittels TGA**

Die TGA und DTA Messungen wurden mit einer Thermowaage STA PT-1600 (Linseis) durchgeführt. Dazu wurden ca. 15 mg der getrockneten mineralisierten Hydrogele unter synthetischer Luft im Bereich von RT bis zu  $1000 \text{ }^\circ\text{C}$  und einer Heizrate von  $10 \text{ K/min}$  mit vermessen. Dabei diente Aluminiumoxid ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) als Referenzmaterial. Die Restmasse bei  $1000^\circ\text{C}$  diente dann der quantitativen Bestimmung.

## 8.7 Biologische Tests

### 8.7.1 Zellverträglichkeitsstudien mittels *Dictyostelium discoideum* (Amöben)

Für zytotoxische Studien wurden sowohl unbehandelten Gele als auch mineralisierte Gele verwendet. Die Calciumphosphatmineralisation erfolgte im Sørensenpuffer bei pH = 7,42 und die Calciumcarbonatmineralisation wie in Kapitel 7.5 und 7.6 beschrieben. Die fertigen Gele wurden für 1h in 40 mL dest. Wasser gewaschen und anschließend für 15 min pro Gelseite mit UV-Licht (254 nm) vorbehandelt. Anschließend wurden ca. ¼ der Gele in sterile Gefäße (Nunc® IVF Centerwell Dish von Thermo Scientific) gegeben. Es erfolgte die Zugabe von *Dictyostelium discoideum* Zellen (AX2 Stamm GFP- $\alpha$ -Tubulin Zellen) im HL5c Medium (Formedium, Hunsanton, UK). Nach einer Inkubationszeit von 60 h bei 21 °C wird das Gelstück entfernt und die Zellen resuspendiert. Die Fixierung erfolgt mit Glutaraldehyd (0,5 %, Plano, Wetzlar) und Mowiol als wasserlösliches Einbettmittel. Als Antibleichmittel wurde zusätzlich N-Propylgallat (98 % von Sigma-Aldrich) hinzugegeben. Die Weitfeldmikroskopieaufnahmen wurden in der AG Gräf (Zellbiologie) mit einem Zeiss CellObserver HS/Axiovert 200M System mit einer PlanApo 100x/1.4 N.A. Linse und einer AxioCam MRm Rev. 3 CCD Kamera aufgenommen. Dabei wurde für die z-Stapelaufnahmen ein Ebenabstand von 0,25  $\mu$ m gewählt. Zur Auswertung wurde das Programm ImageJ 1.48k (Rasband, W.S., ImageJ, U.S: National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2014.) verwendet.

Um die Beweglichkeit der Amöben auf den Materialien und ihre Entwicklung analysieren zu können, wurden die Hydrogele zunächst in Phosphatpuffer über Nacht gelagert. Anschließend wurden jeweils 21 mm Proben mit der Stanze entnommen. *Dictyostelium discoideum* Zellen (Wildtyp) wurden mittels Zählkammer nach Neubauer ausgezählt, sodass  $5 \cdot 10^5$  Zellen/cm<sup>2</sup> in 25  $\mu$ L auf dem Material ausgesät werden können. Die getrockneten Proben werden alle 15 min innerhalb 24 h fotografiert.

## 8.7.2 Fibroblasten<sup>20</sup>

### MTT-Test

Das Hydrogel B10 wurde zunächst über ein Wochenende in 70%-igem EtOH desinfiziert und anschließend für ebenfalls 24 h mit PBS gewaschen. In eine 12-well Platte wurden Hydrogelstücke mit Medium (DMEM + 10% FBS + 1% Penicillin/Streptomycin) für 24 h bei 37°C inkubiert. Dieses Medium dient im folgenden MTT-Test als Extraktmedium.

Für diesen wurde ein modifiziertes Protokoll in Anlehnung an EN ISO 10993-5:2009 zur „Prüfung auf *in-vitro* Zytotoxizität“ verwendet. Dazu wurden  $10^4$  embryonale Fibroblasten aus Ratten (Zelllinie: REF52-wt P25) in einer 96-well Platte ausgesät und inkubiert. Nach 24 h erfolgte dann der Austausch des Mediums gegen das Extraktmedium (s.o.) in den prozentualen Mengen 100, 70, 50 und 30%. Als Negativkontrolle (hier: Versuch ohne Zusätze zum Ausschluss von z.B. gestörten Zelllinien) diente das reine Medium und als Positivkontrolle (hier: Versuch mit einem Medium, welches den Zelltod herbeiführt) 10 % DMSO im Medium. Diese Proben wurden für weitere 24 h inkubiert. Anschließend erfolgt für 2 h die Inkubation mit dem Farbstoff MTT (1 mg/mL in MEM Earles w/o Phenolrot) Es erfolgt der Austausch mit 100  $\mu$ L Isopropanol. Die Absorption konnte dann bei einer Wellenlänge von 570 nm im Plate Reader (Epoch2, Biotek) gemessen werden.

### Zytotoxizitätstests

Die Hydrogele werden mit 70 %igem EtOH sterilisiert und anschließend 3x mit PBS gespült. Die Inkubation erfolgt für 7 h.

## 8.7.3 SAOS-2 und Chondrozyten<sup>21</sup>

### Zell Ursprung und Kultivierung

Die Saos-2 Zellen (von ATCC) wurden entsprechend der Vorschrift der Firma kultiviert und eingefroren. Die humanen Chondrozyten wurden nach Einwilligung des Patienten während einer Knie-Operation aus dem Kniegelenk gemäß dem veröffentlichten Protokoll entnommen und eingefroren.<sup>412</sup>

Als Grundlage für alle Experimente wurden Probengefäße mit  $1 \cdot 10^6$  Zellen in einem Wasserbad von 37°C aufgetaut. Unter laminarer Strömung einer Sicherheitswerkbank wurde die Zelllinie in eine 15 mL Probenröhrchen überführt und mit 7 mL warmen Medium vorsichtig aufgefüllt. Durch Zentrifugation bei 300 g für 5 min erfolgt die Trennung der Zelllinie vom

---

<sup>20</sup> Anmerkung: Diese Tests wurden in der AG von Prof. Selhuber-Unkel an der CAU in Kiel von vorrangig Reza und Christine Arndt durchgeführt. Daher erfolgt hier nur die generelle Beschreibung der Durchführung.

<sup>21</sup> Experimente wurden als Kooperation von der AG Anderer der BTU Cottbus-Senftenberg durchgeführt.

Medium. Die erneute Zugabe von 13 mL warmen Mediums und die Überführung in eine T75 Flasche (Sarstedt, Deutschland) schließt die Vorbereitung ab.

Beide Zelltypen wurden als Monoschicht (2D Zellkultur) bei 37°C und 5 % CO<sub>2</sub> in den T75 Flaschen kultiviert. Lediglich das Medium unterschied sich. So wurde für die Saos-2 Zellen McCoy's 5A (Biowest) mit 2 mM L-Glutamin und 15 % fetalem Kälberserum FBS (Biowest) verwendet, wohingegen die Chondrozyten in DMEM/Ham's F12 1:1 (Biowest) mit 4 mM L-Glutamin (biowest) und 10 % humanem Blutserum HS (Deutsches Rotes Kreuz) versetzt. Der vollständige Mediumwechsel erfolgte für die Saos-2 Zellen dreimal wöchentlich und für die Chondrozyten wurde das halbe Medium mit denselben Intervallen getauscht.

Für Subkulturen erfolgte die Ablösung der Zellen mittels 0,05 % Trypsin und 0,02 % EDTA (Biowest). In diesen Subkulturen wurden Saos-2 Zellen 1:10 und Chondrozyten 1:3 in T75 Flaschen aufbewahrt.

Für anschließende zytotoxische Messungen und Differenzierungsexperimente wurde diese Subkultur 1:1 in 0,4 %iger Trypanblau-Lösung (Lonza Group Ltd.) verdünnt. Ein Hämozytometer wurde zur Präparation der definierten Zellzahl verwendet.

### Hydrogelpräparation

In ein 48er-Mikrotiterplatte (ThermoFisher Scientific) wurden zunächst Agaroselösungen gefüllt. Für die Saos-2-Zellen erfolgte die Zugabe von IMDM (Biowest) und für die Chondrozyten DMEM/Ham's F12 1:1 (Biowest). Darauf wurden Hydrogelproben von B10, B50 bzw. B100 gelegt, welche zunächst aus dem Probenkörper durch ausstanzen erhalten wurden. Nach 30 min Trocknung an der Luft bei RT erfolgte die Zugabe des Mediums in Abhängigkeit vom Zelltyp. Als Additiv wurde eine antibiotische Lösung hinzugegeben. Die Vorläuferlösung setzte sich aus  $2,5 \cdot 10^2$  U/mL des Kaliumsalzes vom Benzylpenicillin (Carl Roth),  $2,5 \cdot 10^4$  µg/mL Streptomycin als Sulfatsalz (Sigma-Aldrich),  $2,5 \cdot 10^4$  µg/mL Neomycin (Sigma-Aldrich) und  $2,5 \cdot 10^2$  U/mL Bacitracin (Sigma-Aldrich) in 0,9 %iger Kochsalzlösung 1:20 verdünnt im Medium zusammen. Die Sterilisation erfolgte unter UV-Licht für 30 min.

### Zytotoxizitätstests mittels Orangu™

Der Orangu™ Test (CellGuidance Systems Ltd.) wurde gemäß der Anleitung der Firma durchgeführt. Dazu wurden zunächst die Zellen gezählt und für 5 min bei 300 g zentrifugiert. Zu den Saos-2 Zellen erfolgte nun die Zugabe von IMDM mit 300 µM L-Ascorbinsäure-2-phosphat (Sigma-Aldrich), 10 mM β-Glycerophosphat Dinatriumsalz Hydrat (Santa Cruz Biotechnology Inc.) und 1% „serum substitute“ (Panexin; Pan-Biotech). Chondrozyten hingegen wurden resuspendiert in DMEM/Ham's F12 (1:1) mit 4 mM L-Glutamin und 1 % HS. Auf die vorbereiteten Hydrogelproben wurden  $3,0 \cdot 10^5$  Zellen ausgesät. Als 3D-Negativprobe (Mikrogewebe) wurden  $3,0 \cdot 10^5$  Zellen/Well in eine 96er- Mikrotiterplatte mit zellabstoßenden Eigenschaften (Greiner bio-one) gegeben. Die Kultivierung erfolgte für eine Woche bei 37°C

und 5 % CO<sub>2</sub>. Dabei erfolgte der Wechsel des Mediums täglich. Nach einer Woche erfolgte die Zugabe von 10 µL pro 100 µL Medium der Orangu™ Lösung. Es ist anzumerken, dass die Experimente der Kontrollproben mit 200 µL und die Hydrogelproben mit 300 µL Medium kultiviert wurden. Als Positivprobe wurde 20 % DMSO (AppliChem) zur Negativprobe gegeben. Jede Stunde erfolgte nun die Entnahme von 100 µL (Kontrollproben) bzw. 200 µL (Hydrogelproben) in eine 96er-Mikrotiterplatte. Die Messung der Absorption wurde mittels „*microplate reader*“ (BMG Labtech) bei 450 nm und 655 nm. Die Messlösung wurde anschließend zurück zur entsprechenden Probe gegeben. Den Abschluss dieses Experimentes stellt der vollständige Wechsel des Mediums dar.

### Zytotoxizitätstests mittels CellTiter-Glo®

Der CellTiter-Glo®Test (CellGuidance Systems Ltd.) wurde gemäß der Anleitung der Firma durchgeführt. Dazu wurden die Proben aus dem vorangegangenen Orangu™ Test verwendet. Lediglich die Positivprobe (5h mit 20 % DMSO) wurde neu angesetzt. Den Beginn dieses Tests stellt die Reduktion des Probenvolumens auf 100 µL (Kontrollprobe) und 200 µL (Hydrogelprobe) dar. Dazu wurden äquivalente Mengen der CellTiter-Glo®-Lösung gegeben und für 4 ½ min geschüttelt. Die Inkubation erfolgt unter Ausschluss von Licht für 25 min. Nach Entnahme des Mediums erfolgt die Messung der Lumineszenz mittels „*microplate reader*“ und einem Faktor von 3500.

### Zelldifferenzierung in 3D-Zellkultur

Die Saos-2 Zellen können direkt aus der Subkultur verwendet werden. Bei den Chondrozyten erfolgt 4 d vor den Experimenten ein spezieller Mediumwechsel. Darin sind zusätzlich 1 % Insulin, Transferrin und Natriumselenit (ITS).

Die Zellen wurden zu Beginn des Experiments gezählt und für 5 min bei 300 g zentrifugiert. Die Resuspension der Saos-2 Zellen erfolgte in IMDM mit 300 µM L-Ascorbinsäure-2-phosphat (Sigma-Aldrich), 10 mM β-Glycerophosphat Dinatriumsalz Hydrat (Santa Cruz Biotechnology Inc.) und 1% „serum substitute“ (Panexin; Pan-Biotech). Die Chondrozyten wurden in DMEM/Ham´s F12 (1:1) mit 4 mM L-Glutamin und 1 % HS resuspendiert. Auf die vorbereiteten Hydrogelproben wurden  $3,0 \cdot 10^5$  Zellen ausgesät. Als 3D-Negativprobe (Mikrogewebe) wurden  $3,0 \cdot 10^5$  Zellen/Well in eine 96er- Mikrotiterplatte mit zellabstoßenden Eigenschaften (Greiner bio-one) gegeben. Für die Saos-2 Zellen wurde eine zusätzliche Kontrollprobe mit  $5,0 \cdot 10^4$  Zellen/Well in einer 24er-Mikrotiterplatte angelegt. Die Zellen in sechs Wells verbleiben im „*expansion*“ Medium. Alle anderen wurden mit „*differentiation*“ Medium aufgefüllt. Der Mediumwechsel innerhalb der nächsten vier Wochen erfolgt täglich. Die Hydrogele und das Mikrogewebe der Kontrollproben wurden dann aus dem Well mit einem sterilen Skalpell entfernt und eingebettet in Tissue Tek®, einem

wasserlöslichen Einbettmedium aus Glykolen und Harzen, und eingefroren. Mit dem Kryomikrotom wurden 9 µm dicke Scheiben geschnitten. Nach Lufttrocknen wurden immunhistochemische und histologische Färbungen entsprechend der Literatur durchgeführt.<sup>413</sup>

### Mikroskopische Analyse

Die Morphologie der Zellen wurden mittels Phasenkontrastmikroskop (CKX41; Olympus) untersucht und entsprechende Bilder mittels DP71 Kamera (Olympus) aufgenommen. Zellgewebe und Hydrogelproben wurden zusätzlich mit einem Stereomikroskop (SZX10 stereo microscope, Olympus; DP71 camera and Cell<sup>D</sup>-Imaging Software) analysiert.

Fluoreszenzmikroskopie (IX81, Olympus) wurde mit Xe (MT20, Olympus) durchgeführt. Aufnahmen wurden mittels monochromatischer Kamera (Retiga 6000; QImaging) aufgenommen und anschließend mittels cellSens (Olympus) eingefärbt. Histologische Präparationen wurden mittels Mikroskops (BX41, Olympus) und einer ColorView I oder SC180 Kamera (Olympus) dokumentiert.

#### **8.7.4 E-coli<sup>22</sup>**

Die Dopplungsrate von *S.aureus* und *E.coli*. können über eine photometrische Bestimmung der Zellzahl ermittelt werden. Dies erfolgte als Servicemessung in der AG Arndt durch Dr. Stefan Hoffmann.

Kurzfassung: Die Monomere werden mit Konzentrationen zwischen 0,1 und 100 mg/mL in Medium mit den entsprechenden Bakterien bekannter Zellzahl inkubiert. Da die optische Dichte gleichbedeutend mit der Zellzahl ist, kann bei 600 nm detektiert werden. Daraus errechnen sich anschließend die Dopplungen pro Stunde.

#### **8.7.5 Phage Display M13 und Bindungstests<sup>23</sup>**

B10-Proben (ca. 5·5·5 mm<sup>3</sup>) wurden mindestens 1 h in Tris gepufferte Kochsalzlösung (50 mM Tris pH 7.5; 150 mM NaCl) mit 0,1 % Tween 20 (TBST) inkubiert. Anschließend wurde TBST entfernt und 500 µL neu hinzugegeben. Nach Zugabe von 10 µL der Phagenbibliothek (New England Biolabs, Inc) mit  $1,0 \cdot 10^{13}$  (pfu/mL) wurden die Proben für 60 min bei RT unter konstanter Bewegung (Thermomix, 800 rpm) inkubiert. Hinterher erfolgte ein 10-maliger Waschprozess zur Entfernung von nicht gebundenen Phagen mittels TBS und 0,5 % Tween 20. Um gebundene Phagen zu eluieren, wurde für 10 min bei RT 1 mL Glycin Elutionspuffer bestehend aus 0,2 M Glycin, pH 2,2 und 1 mg/mL Bovines Serumalbumin (BSA)

---

<sup>22</sup> Experimente wurden von Dr. Stefan Hoffmann der AG Arndt durchgeführt.

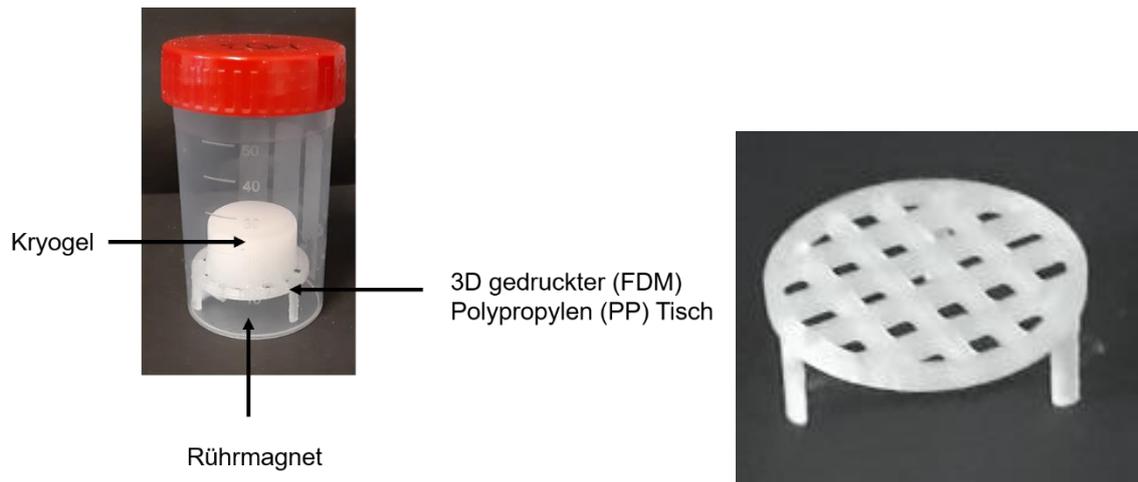
<sup>23</sup> Experimente wurden von David Petracek im Zuge der Bachelorarbeit durchgeführt.

hinzugegeben. Die Neutralisation der Lösung erfolgte anschließend mit 150  $\mu\text{L}$  1 M Tris-HCl mit  $\text{pH} = 9,1$ . Die so eluierten Phagen wurden in *E.coli*. ER2738 in einem Schüttelinkubator bei 250 rpm für 4,5 h bei 37°C geschüttelt. Die Reinigung erfolgte mit Polyethylenglykol-8000/Natriumchlorid (PEG/NaCl). Zur Bestimmung der Konzentration an Phagen wurde Phagen „titering“ verwendet. Für nachfolgende „Biopanning“ Zyklen wurden  $1,5 \cdot 10^{11}$  Phagen der ersten Runde verwendet. Am Ende wurden fünf Zyklen gefahren. Nach der vierten und fünften Runde wurden 30 zufällig ausgesuchte Phagenklone auf ihre DNS mittels BioEdit Sequence Alignment Editor analysiert.

## **8.8 Anwendungsorientierte Analytik**

### **8.8.1 Adsorptionsmessungen mittels UV-Vis Spektroskopie**

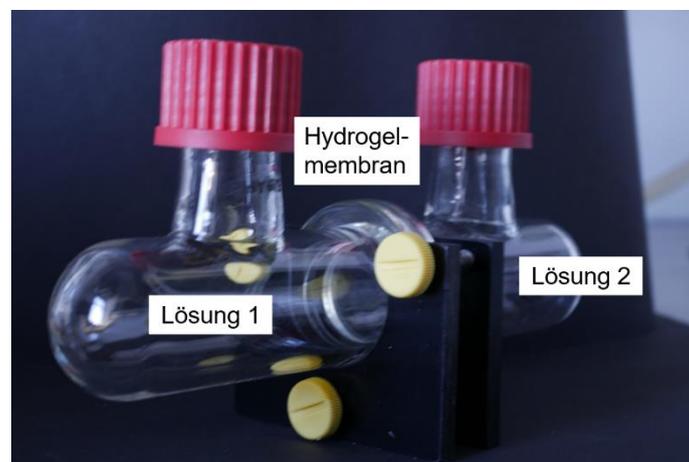
In Abbildung 8. 2 ist der generelle Aufbau für die Adsorptionsmessungen gezeigt. In ein 50 mL Schraubdeckelgefäß aus PP werden ein magnetischer Rührstab, ein 3D-gedruckter PP Tisch und das Kryogel gegeben. Zusätzlich wurden Vergleichsmessungen durchgeführt, in denen der Messaufbau lediglich aus dem Rührstab und dem PP-Tisch bestehen. Anschließend erfolgt die Zugabe von 40 mL einer org. Farbstofflösung. Einzelmessungen mit Methylenblau (MB) und Methylorange (MO) wurden mit einer 50 mg/L Stammlösung durchgeführt. Analoge Messungen mit beiden Farbstoffen erfolgten mit einer Gesamtfarbstoffkonzentration von 25 mg/L, was einer Konzentration von 12,5 mg/L pro Farbstoff entspricht. Nach definierten Zeitspannen (zunächst 30 min, dann stündlich) wurden 200  $\mu\text{L}$  aus dem Gefäß entnommen und in einer Küvette aus Poly(methylmethacrylat) PMMA (semi-micro, VWR) mit 1,8 mL Reinstwasser aufgefüllt. Zur Aufnahme der UV-Vis Spektren im Bereich von 250 -1000 nm wurde ein UV-1900 Spektrophotometer (Shimadzu) verwendet. Im Absorptionsmodus erfolgte die Messung mit einer mittleren Scanrate und einem Intervall von 1 nm. Für alle Messungen wurden jeweils drei separate Ansätze verwendet. Zur Berechnung der Farbstoffkonzentration wurden sieben Punkte Kalibriergeraden mit  $R^2 > 0,999$  verwendet.



**Abbildung 8. 2:** Eigenes Foto vom 26.05.2020 vom generellen Aufbau der Adsorptionsmessungen. Links – Kompletter Aufbau mit dem Kryogel auf einem 3D gedruckten Tisch aus PP. Unterhalb des Tisches wurde ein magnetisches Rührstäbchen platziert. Rechts – Nahaufnahme des 3D gedruckten PP-Tisches.

### 8.8.2 Osmose

Die Hydrogele wurden als Membran in einem Osmose Aufbau verwendet. Dazu wurden Die Hydrogele entsprechend Kapitel 7.3.5 a) synthetisiert und in der Osmosekammer befestigt. Unterschieden werden in drei Varianten, welche in der nachfolgenden Abbildung festgehalten wurden.



**Abbildung 8. 3:** Eigenes Foto vom 06.03.2019 der Osmosekammer.

Variante 1: Lösung 1 – MO, MB oder Mischung MB/MO; Lösung 2 – Reinstwasser

Variante 2: Lösung 1 –  $\text{CaCl}_2$  (aq); Lösung 2 - Sørensenpuffer

Variante 3: Lösung 1 – HCL ( $c = 0,001 \text{ mol/L}$ ); Lösung 2 – Reinstwasser

### 8.8.3 Horizontale Gelelektrophorese

Hydrogele mit einer Abmessung von (12,5 x 6) cm wurden entsprechend Kapitel 7.2 synthetisiert. Das Hydrogel wurde für 24 h in CaCl<sub>2</sub>-Lösung gelegt. Das so präparierte Hydrogel wurde in ein Mini Gel II von VWR transferiert. Auf der Kathodenseite wurde eine phosphathaltige Lösung und von der Anodenseite eine calciumhaltige Lösung gegeben.

### 8.8.4 Oberflächenmodifikation

Zunächst wurden Silizium-Wafer mit einer Abmessung von 2·1 cm bereitgelegt. Die Reinigung erfolgte in Piranhasäure (Caroscher Säure 1:1 Schwefelsäure und Wasserstoffperoxid) für 30 min. Anschließend wurde dreimal mit Reinstwasser, einmal mit EtOH und einmal Toluol bzw. Diethylether gewaschen. Für die Silanisierung wurde 0,4 mL des Silans in 40 mL Toluol bzw. Diethylether gelöst. Der gereinigte Si-Wafer wurde über Nacht in die so vorbereitete Lösung gestellt. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Si-Wafer einmal mit Toluol, zweimal mit EtOH, zweimal mit Reinstwasser und erneut einmal mit EtOH gereinigt. Die Trocknung erfolgte unter Druckluft. Die Messung des Kontaktwinkels wurde am Cam 100 (KSV) durchgeführt. Auf den modifizierten Si-Wafern wurde eine freie radikalische Photopolymerisation mit den Vorläuferlösungen entsprechend dem Kapitel 7.3 durchgeführt.

### 8.8.5 3D-Druck mittels „Inkjet“-Verfahren

#### Photopolymerisation

Als Prototyp wurden die Vorläufer-Lösungen aus Kapitel 7.3 genommen und in eine Tropfpipette gegeben. Gleichzeitige Verwendung dieser Pipette mit einem Laser 405 nm ermöglichte die Aufbringung von flächigen Formen.

#### Redoxpolymerisation

Analog wurden in diesem Fall die Vorläufer-Lösungen aus Kapitel 7.4 genommen. In eine Spritzenkammer wurde eine wässrige KPDS Lösung gefüllt und in eine weitere die wässrige Lösung aus SPE, TMBEMPA/Br und TMEDA gegeben. Dabei wurden sowohl Volumen H<sub>2</sub>O, Stoffmenge KPDS als auch Volumen TMEDA variiert.

### **8.8.6 Fluoreszenzmessungen**

Die Synthese der Peptidsequenzen mit Fmoc-geschützten Aminosäuren und Rhodamin B Isothiocyanat über eine Festphasensynthese erfolgte durch Matthias Hartlieb<sup>414</sup>. Die anschließenden Fluoreszenzmessungen wurden am FluoroMax-3<sup>®</sup> (JOBIN YVON HORIBA) durchgeführt. Dazu wurden Hydrogele in ein 15 mL Zentrifugenröhrchen (aus PP, VWR) mit 4 mL der Fluoreszenzfarbstofflösung gegeben und auf einen Kreisschüttler (IKA<sup>®</sup> KS 260 basic) bei einer Drehzahl von 300/min gestellt. Alle 30 min erfolgte die Entnahme von 2 mL mittels Eppendorfpipette und die Vermessung der Fluoreszenzintensität. Als Anregungswellenlänge diente 555 nm. Das Emissionsspektrum wurde im Bereich 555-750 nm als 1 Scan mit einem Inkrement von 1 nm und einer Integrationszeit von 0,25 s aufgezeichnet.

### **8.8.7 Superabsorber**

Das Hydrogel S100 wurden entsprechend Kapitel 7.2 synthetisiert. Das Xerogel konnte mit einem Mörser/Pistill homogenisiert werden. Anschließend erfolgte die Zugabe von H<sub>2</sub>O in 1 mL Schritten zu 100 mg des Xerogels.

Ein analoges Vorgehen ist prinzipiell auch mit dem T100 möglich, jedoch ist die Homogenisierung aufgrund der zähen Konsistenz des Xerogels eingeschränkt.

### III. Anhang

Anmerkung: Aufgrund der hohen Datenmenge wurde sich hierbei auf wesentliche Messungen und ergänzende Informationen beschränkt. Eine Datensammlung der Rohdaten liegt der Dissertation bei. Dabei erfolgt die Unterteilung in folgende grobe Ordnerstruktur.

Inhalt:

1. Analytik des Vernetzers TEMBEMPA/Br
2. Hydrogele via thermisch initiiertes Polymerisation
3. Hybridmaterialien
4. Wechselwirkung mit biologischen Systemen
5. Hydrogele via lichtinitiiertes Polymerisation
6. Hydrogele via redoxinitiiertes Polymerisation
7. Weiteres

## Anhang A: Analytik der Hydrogele via thermisch initiierte Polymerisation

## DSC- Thermogramme:

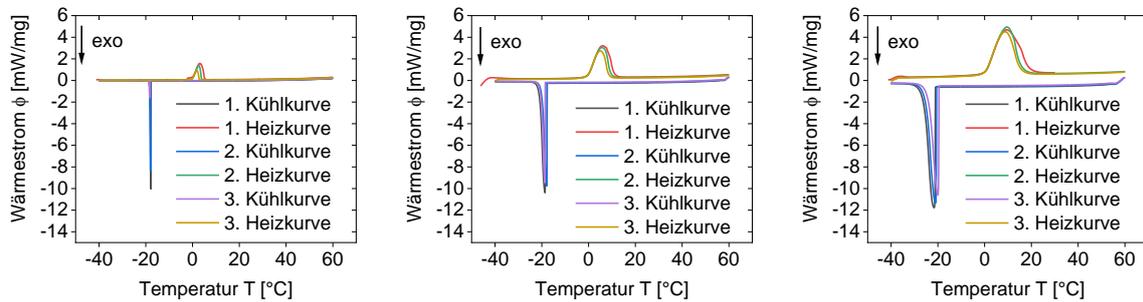


Abbildung A 1: Thermogramme des Hydrogels B10 bei unterschiedlichen Heizraten.

links - 1 K/min; mittig - 5 K/min; rechts - 10 K/min.

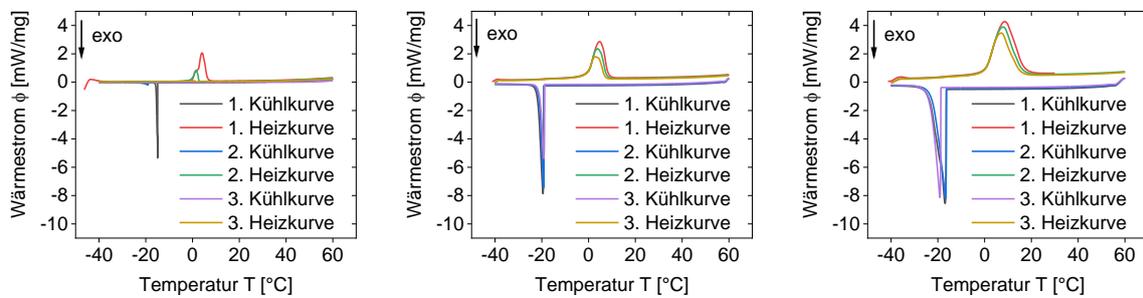


Abbildung A 2: Thermogramme des Hydrogels B50 bei unterschiedlichen Heizraten.

links 1 K/min; mittig - 5 K/min; rechts - 10 K/min.

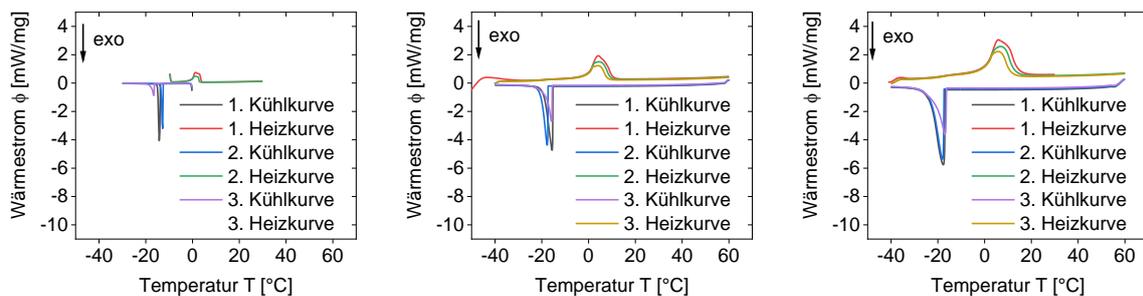
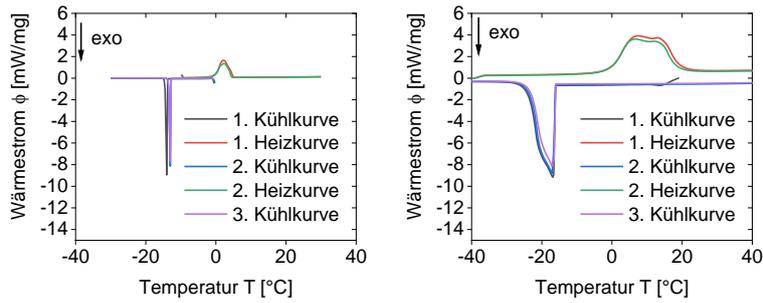
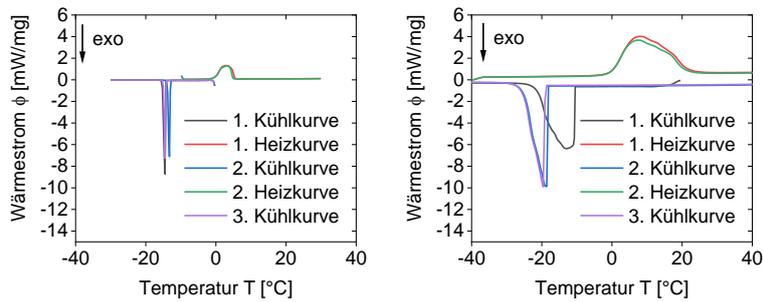


Abbildung A 3: Thermogramme des Hydrogels B100 bei unterschiedlichen Heizraten

links - 1 K/min; mittig - 5 K/min; rechts - 10 K/min. Anmerkung: Die Daten zur Messung mit 1 K/min stammen von Anne-C. Lehnen<sup>158</sup>

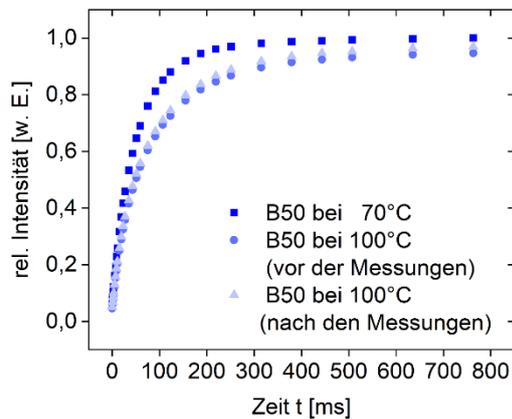


**Abbildung A 4:** Thermogramme des Hydrogels S10 bei unterschiedlichen Heizraten. links 1 K/min; rechts – 10 K/min. Anmerkung: Daten von Anne-C. Lehnen<sup>158</sup>

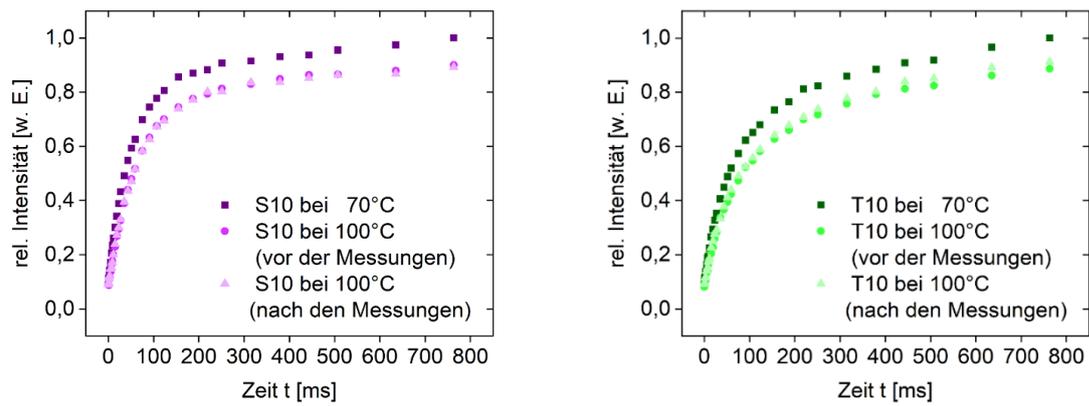


**Abbildung A 5:** Thermogramme des Hydrogels T10 bei unterschiedlichen Heizraten. links 1 K/min; rechts – 10 K/min. Anmerkung: Daten von Anne-C. Lehnen<sup>158</sup>

### Niederfeld-NMR- Satrec



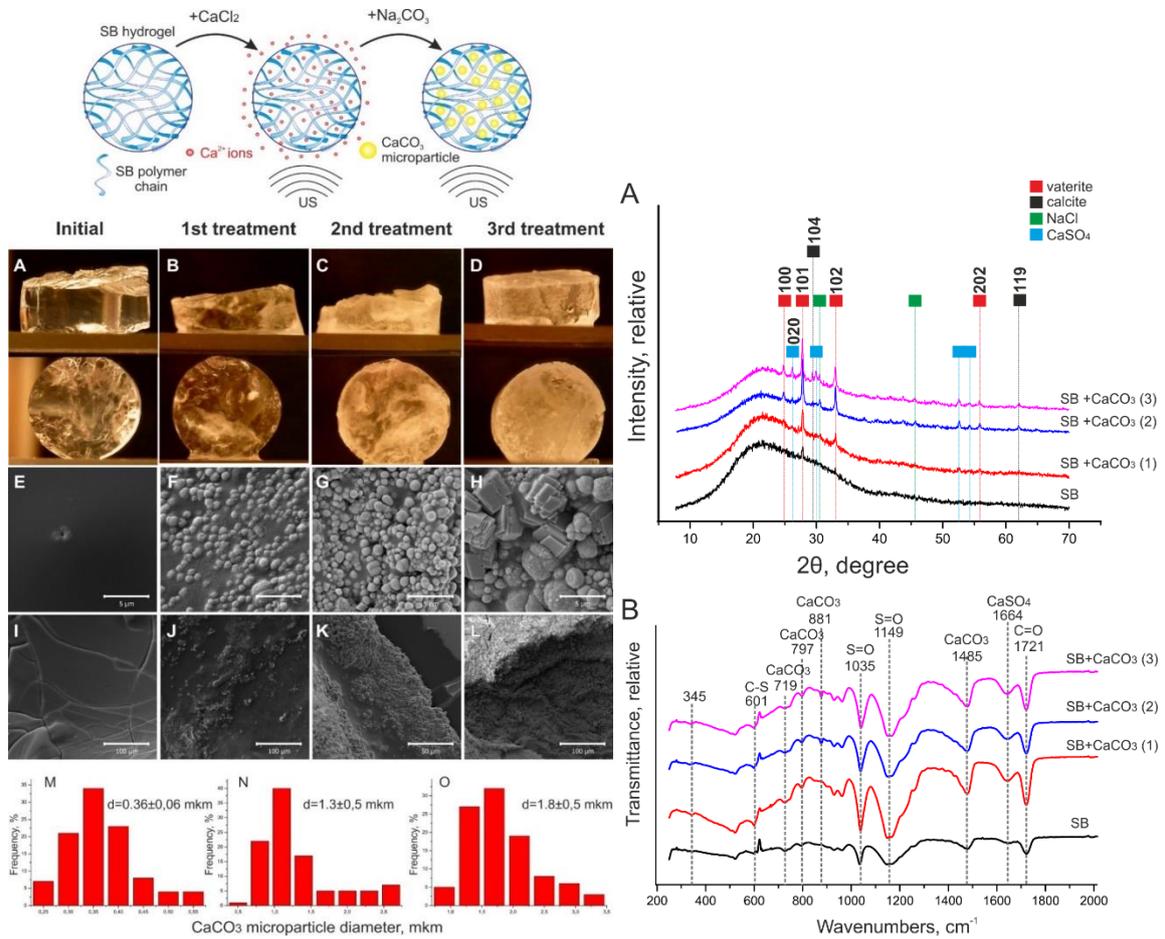
**Abbildung A 6:** Darstellung der Temperaturabhängigkeit ( $T = 70$  bzw.  $100^\circ\text{C}$ ) der Ergebnisse des Satrecs am Beispiel B50. Bei  $100^\circ\text{C}$  wurden jeweils zwei Messungen durchgeführt, wobei eine vor den weiteren nachfolgenden Messungen und eine nach den weiteren Messungen als letztes erfolgte.



**Abbildung A 7:** Darstellung der Temperaturabhängigkeit ( $T = 70$  bzw.  $100^{\circ}\text{C}$ ) der Ergebnisse des Satrecs. Links – Am Beispiel S10; Rechts – Am Beispiel von T10. Bei  $100^{\circ}\text{C}$  wurden jeweils zwei Messungen durchgeführt, wobei eine vor den weiteren nachfolgenden Messungen und eine nach den weiteren Messungen als letztes erfolgte

Anhang B: Analytik der Hybridmaterialien

Daten aus der Kooperation mit Timothy Douglas



## Anhang C: Erklärungen der Peptidsequenzen

**Tabelle C 1:** Ausgewählte Phagenklone zur Ermittlung der Bindungsstärke und dessen Aminosäuresequenz sowohl im Einbuchstaben-Code als auch Dreibuchstaben-Code und dessen generelle Zusammensetzung der Aminosäure (AS). \* Grün – N-terminale AS und Blau – C-terminale AS.

Phage	Sequenz* Einbuchstaben-Code (Dreibuchstaben-Code)	Zusammensetzung
4	<b>VPTFWTKIEHAA</b> (Val-Pro-Thr-Phe-Trp-Thr-Lys-Ile- Glu-His-Ala-Ala)	Valin-Prolin-Threonin-Phenylalanin- Tryptophan-Threonin-Lysin-Isoleucin- Glutaminsäure-Histidin-Alanin-Alanin
7	<b>NRPDSAQFWLHH</b> (Asn-Arg-Pro-Asp-Ser-Ala-Glu- Phe-Trp-Leu-His-His)	Asparagin-Arginin-Prolin-Asparaginsäure- Serin-Alanin-Glutamin-Phenylalanin- Tryptophan-Leucin-Histidin-Histidin
14	<b>LLADTTHHRPWT</b> (Leu-Leu-Ala-Thr-Thr-His-His- Arg-Pro-Trp-Thr)	Leucin-Leucin-Alanin-Asparaginsäure- Threonin-Threonin-Histidin-Histidin- Arginin-Prolin-Tryptophan-Threonin
80	<b>TMGFTAPRFPHY</b> (Thr-Met-Gly-Phe-Thr-Ala-Pro- Arg-Phe-Pro-His-Tyr)	Threonin-Methionin-Glycin-Phenylalanin- Threonin-Alanin-Prolin-Arginin- Phenylalanin-Prolin-Histidin-Tyrosin
8	<b>GQSEKHL</b> (Gly-Glu-Ser-Glu-Lys-His-Leu)	Glycin-Glutamin-Serin- Glutaminsäure- Lysin-Histidin-Leucin
26	<b>QQTNWSL</b> (Glu-Glu-Thr-Asn-Thr-Ser-Leu)	Glutaminsäure- Glutaminsäure-Threonin- Asparagin-Tryptophan-Serin-Leucin
46	<b>QLAVAPS</b> (Glu-Leu-Ala-Val-Ala-Pro-Ser)	Glutaminsäure-Leucin-Alanin-Valin-Alanin- Prolin-Serin
48	<b>KIAVIST</b> (Lys-Ile-Ala-Val-Ile-Ser-Thr)	Lysin-Isoleucin-Alanin-Valin-Isoleucin- Serin-Threonin
56	<b>HGGVRLY</b> (His-Gly-Gly-Val-Arg-Leu-Try)	Histidin-Glycin-Glycin-Valin-Arginin- Leucin-Tyrosin
107	<b>TVNFKLY</b> (Thr-Val-Asn-Phe-Lys-Leu-Try)	Threonin-Valin-Asparagin- Phenylalanin- Lysin-Leucin-Tyrosin

## IV. Abbildungsverzeichnis

### Kapitel II

Abbildung II. 1: N-(3-Sulfopropyl)-N-methacroyloxyethyl-N,N-dimethyl-ammonium-betain (SPE).....	ix
Abbildung II. 2: 3-Sulfopropylmethacrylat Kaliumsalz (SPM).....	ix
Abbildung II. 3: [2-(Methacroyloxy)ethyl]triethylammoniumchlorid (TMAEMA).....	ix
Abbildung II. 4: N,N,N',N'-Tetramethyl-N,N'-bis(2-ethylmethacrylat)-propyl-1,3 diammoniumdibromid (TMBEMPA/Br).....	ix
Abbildung II. 5: Kaliumperoxodisulfat (KPDS).....	x
Abbildung II. 6: 2-Hydroxy-1-[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]-2-methyl-1-propanon (Irgacure D-2959).....	x
Abbildung II. 7: bis-(4-methoxybenzoyl)diethyl germane (Ivocerin®).....	x
Abbildung II. 8: N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin (TMEDA).....	x
Abbildung II. 9: Methylorange (MO).....	xi
Abbildung II. 10: Methylenblau (MB).....	xi

### Kapitel 1

Abbildung 1. 1: Das Monomer N-(3-Sulfopropyl)-N-methacroyloxyethyl-N,N-dimethyl-ammonium-betain (SPE) (links) und der chemische Vernetzer N,N,N',N'-Tetramethyl-N,N'-bis(2-ethylmethacrylat)-propyl-1,3 diammoniumdibromid (TMBEMPA/Br) (rechts).....	4
Abbildung 1. 2: Das negativ geladene Monomer 3-Sulfopropylmethacrylat Kaliumsalz (SPM) (links) und das positiv geladene Monomer [2-(Methacroyloxy)ethyl]triethylammoniumchlorid (TMAEMA) (rechts).....	4

### Kapitel 2

Abbildung 2.1. 1: Schematische Darstellung der Entstehung von HAP über den thermodynamischen (dunkles Blau) und kinetischen (helles Blau) Kristallisationsweg in Anlehnung an Xu et al. <sup>122</sup> und Cölfen et. al. <sup>123</sup> .....	10
Abbildung 2.1. 2: Schematische Darstellung der Kristallsysteme Calcit, Aragonit und Vaterit in Anlehnung an Maleki et al. <sup>111</sup> .....	11
Abbildung 2.1. 3: Schematische Darstellung der Kristallisationswege des Calciumcarbonates in Wasser in Anlehnung an Myszka et al. <sup>125</sup> .....	12
Abbildung 2.1. 4: Schematische Darstellung des LaMer Diagramms in Anlehnung an LaMer et al. <sup>129,130</sup> Bereich I – Anstieg der Konzentration der gelösten Komponenten; Bereich II – Nukleation; Bereich III – Beim Keimwachstum ist die Geschwindigkeit der Bildung und des Abbaus gleich. $c_s$ – Konzentration der Sättigung; $c_N$ – Konzentration der Nukleation; $c_{\bar{u}}$ – Konzentration der Übersättigung. ....	14
Abbildung 2.1. 5: Schematische Darstellung der Keimbildungsenergie in Abhängigkeit vom Radius in einem Kristallisationsprozess in Anlehnung an S. Mann. <sup>93</sup> .....	16
Abbildung 2.2. 1: Entstehung der Startradikale aus dem Initiator KPDS mittels thermischer Energie. ....	20
Abbildung 2.2. 2: Generelles Funktionsprinzip einer Photopolymerisation. ....	23
Abbildung 2.2. 3: Schematische Darstellung zur Erzeugung von Radikalen durch die Initiierung mit Licht bei 1. - Irgacure D2959 in Anlehnung an Wilems et al. <sup>146</sup> 2. - Ivocerin® <sup>147</sup> .....	24
Abbildung 2.2. 4: Schematische Darstellung der redoxinitiierten freien radikalischen Polymerisation mit KPDS und TMEDA in Anlehnung an Feng et al. und Strachota et al. <sup>150,151</sup> .....	26
Abbildung 2.2. 5: Schematische Darstellung von Polyelektrolyten, Polyampholyten und Polyzwitterionen in Anlehnung an Laschewsky. <sup>153,154</sup> .....	27
Abbildung 2.3. 1: Schematische Darstellung der fünf Grundtypen der Deformation durch einwirken einer externen Kraft.....	30
Abbildung 2.3. 2: Die drei grundlegenden rheologischen Elemente zur Modellierung. Links - ideale Viskosität nach Newton; Mitte - ideale Elastizität nach Hook; Rechts - ideale Plastizität nach St. Venant.....	30
Abbildung 2.3. 3: Rheologische Körper zur Modellierung von viskoelastischen Eigenschaften. Links - nach Maxwell; Mitte – nach Kelvin; Rechts - nach Burger.....	31
Abbildung 2.3. 4: Schematische Darstellung der Scherung.....	31
Abbildung 2.3. 5: Schematische Darstellung der Phasenbeziehung zwischen Kraftkurve $\sigma$ und Verformungskurve $\epsilon$ mit jeweiliger Amplitude ( $\sigma_A$ bzw. $\epsilon_A$ ) und einer Phasenverschiebung um den Phasenwinkel $\delta$ in Anlehnung an Menard. <sup>157</sup> .....	33
Abbildung 2.3. 6: Schematische Darstellung der Kompression. ....	34
Abbildung 2.3. 7: Schematische Darstellung der Datengenerierung zur Ermittlung von Übergangsenthalpien mittels dynamische Wärmestromdifferenzkalorimetrie in Anlehnung an Firma Netzsch. <sup>159</sup> oben – Auftragung der Spannung der Thermoelemente gegen die Zeit; unten – Auftragung des Differenzsignals gegen die Zeit. ....	36
Abbildung 2.3. 8: Schematische Darstellung des Streuvektors $q$ mit Hilfe des einfallenden Wellenvektors $k_i$ und des gestreuten Wellenvektors $k_f$ mit dem Streuwinkel $\theta$ in Anlehnung an Berne et al. <sup>161</sup> and Brookhaven Instruments Cooperation <sup>164</sup> .....	37
Abbildung 2.3. 9: Vereinfachte Darstellung der Wechselwirkung vom Primärstrahl (rot) mit einem Atom in Anlehnung an Szeifert <sup>171</sup> und Gharibkandi et al. <sup>172</sup> .....	41

Abbildung 2.3. 10: Schematische Darstellung der dipolaren Kopplung im statischen System in Anlehnung an Kramer et al. <sup>183</sup> Beschrieben wird hier die Wechselwirkung der Spins I und S. Verbunden sind diese über den internuklearen Vektor R, welcher sich aus dem Abstand R der Spins und dem dazugehörigen Einheitsvektor r in Richtung R zusammensetzt. Der magnetische Feldvektors B kann analog über B und b beschreiben werden. Der Winkel zwischen diesen Vektoren wird als $\theta$ bezeichnet. ....	43
Abbildung 2.3. 11: Schematische Darstellung des makroskopischen Magnetisierungsvektors M0 in Anlehnung an Friebohn in einem ortsfesten Koordinatensystem. <sup>174</sup> .....	44
Abbildung 2.3. 12: Vergleich eines isolierten Spinpaars und eines Netzwerks. Herausgenommen wurden dabei das Spektrum in der Frequenzdomäne, das FID und Hahn Echo (HE) in der Zeitdomäne vor der Fourier Transformation (FT) und ein multiquanten Experiment (MQ). Dargestellt sind idealisierte Kurvenverläufe ohne Relaxation. In Anlehnung an Saalwächter. <sup>184</sup> .....	45
Abbildung 2.3. 13: Schematische Darstellung eines typischen SAXS Profils in Anlehnung an Schnablegger et al. <sup>190</sup> . Dunkelblau – Partikeldispersion; grau – Lösungsmittel; hellblau – Profil der Differenz.....	48
Abbildung 2.3. 14: Schematische Darstellung zur Bragg'schen Reflexion in Anlehnung an Epple. <sup>86</sup> .....	51
Abbildung 2.3. 15: Vereinfachte Darstellung der Wechselwirkung vom Primärstrahl (rot) mit einem Atom und die schematische Erklärung zur Erzeugung von Röntgenstrahlen in Anlehnung an Szeifert. <sup>171</sup> .....	52
Abbildung 2.3. 16: Vereinfachtes Reaktionsschema des ATP-Tests in Anlehnung an Zemouche et al. <sup>203</sup> .....	54
Abbildung 2.3. 17: Vereinfachtes Reaktionsschema der Umwandlung vom wasserlöslichen WST zur wasserunlöslichen Form des Formazans. ....	55
Abbildung 2.3. 18: Schematische Darstellung des Phagen Displays und dem „Biopanning“ in Anlehnung an Lemloh et al. <sup>210</sup> .....	55

## Kapitel 4

Abbildung 4.1. 1: Synthese des Vernetzers TMBEMPA/Br. <sup>211</sup> .....	59
Abbildung 4.1. 2: Übersichtsreaktionsschema für die Synthese des SPE-Gels B10; TMAEMA-Gels T10 und SPM-Gels S10 mit eigenem Foto der transparenten Hydrogele vom 09.10.2019. Bezüglich der Nomenklatur der Hydrogele ist eine detaillierte Beschreibung dem Kapitel 7.2 zu entnehmen. ....	61
Abbildung 4.1. 3: Eigenes Foto vom 10.09.2019 bezüglich der Formvariabilität der Hydrogele. Quadratisch (oben); Zylinder (unten links); Taler (unten Mitte); Zylinder, Rechteck und Würfel (unten rechts).....	62
Abbildung 4.1. 4: Exemplarische Kurvenverläufe aus der zeitlich aufgelöste dynamische Lichtstreuung (TR-DLS) der Proben B10 (links) und T10 (rechts). Anmerkung: Ich bitte die schlechte Auflösung der Abbildungen zu entschuldigen. ....	64
Abbildung 4.1. 5: Auftragung der relativen Massenänderung $\Delta m_{rel}$ in Abhängigkeit von der Temperatur für die Hydrogele der B-Reihe. schwarz – B10; rot – B50; blau – B100. ....	66
Abbildung 4.1. 6: Auftragung der relativen Massenänderung $\Delta m_{rel}$ in Abhängigkeit von der Temperatur für die Hydrogele mit unterschiedlichem Monomer. schwarz – B10; rot – S10; blau – T10.....	68
Abbildung 4.1. 7: Auftragung der relativen Massenänderung $\Delta m_{rel}$ in Abhängigkeit von der Temperatur für S10 (rot) und gleichzeitiger Auftragung des Wärmestroms $\Phi$ gegen die Temperatur (grau). ....	68
Abbildung 4.1. 8: Exemplarisches Thermogramm der Probe B10 aufgenommen mit 1 K/min. Zum Vergleich sind hier die ersten beiden Zyklen dargestellt. ....	70
Abbildung 4.1. 9: Exemplarische Thermogramme der Probe B10 inklusive Heizratenvergleich des 2. Zyklus. Die Heizraten betragen 1 K/min (schwarz), 5 k/min (rot) und 10 K/min (blau). Links – Kühlkurven; Rechts – Heizkurven.....	72
Abbildung 4.1. 10: Rheometrie von B100 a) dreifache Bestimmung der Speicher- und Verlustmodule; b) Box-Diagramme vom Speichermodul; c) Box-Diagramm vom Verlustmodul. ....	73
Abbildung 4.1. 11: Auftragung der Mittelwerte des Speicher- und Verlustmoduls $G'$ bzw. $G''$ gemessen mit 1 Hz bei 25°C.....	74
Abbildung 4.1. 12: IR-Spektren des Vernetzers TMBEMPA/Br und der Xerogele B10, S10 und T10. ....	78
Abbildung 4.1. 13: Aufnahmen der optischen Lichtmikroskopie von der Oberfläche des B50s. Links – Aufnahme aus der Mitte der Oberfläche ; Rechts - Aufnahme vom Rand. ....	80
Abbildung 4.1. 14: Aufnahmen der optischen Lichtmikroskopie von der Oberfläche des B50s. Links – nach 1 d in Reinstwasser; Rechts – nach 2 d in Reinstwasser. ....	81
Abbildung 4.1. 15: Exemplarische Strukturen auf der Hydrogeloberfläche des B100s.....	82
Abbildung 4.1. 16: Kryo-REM Aufnahmen des Hydrogels B10. Links – Maßstab 10 $\mu\text{m}$ ; Rechts – Maßstab 1 $\mu\text{m}$ . ....	83
Abbildung 4.1. 17: Kryo-REM Aufnahmen des Hydrogels B50. Links – Maßstab 10 $\mu\text{m}$ ; Rechts – Maßstab 1 $\mu\text{m}$ . ....	84
Abbildung 4.1. 18: Kryo-REM Aufnahmen des Hydrogels B100. Links – Maßstab 10 $\mu\text{m}$ ; Rechts – Maßstab 1 $\mu\text{m}$ . ....	84
Abbildung 4.1. 19: Kryo-REM Aufnahmen vo Hydrogelen. Links – S10; Rechts – T10. ....	85
Abbildung 4.1. 20: Eigenes Foto vom 21.03.2019 zur auftretenden Trübung der Hydrogele B100 (links), B50 (Mitte) und B10 (rechts) nach Lagerung für 24 h in Reinstwasser nach der Synthese. Durchmesser der Gele beträgt 2,7 -3,4 cm. ....	87

Abbildung 4.1. 21: Eigenes Foto vom 21.03.2019 der Hydrogele B100. Getrübtes B100 nach Lagerung von 24 h in Reinstwasser nach der Synthese (links) und transparentes und farbloses B100 nach Lagerung von vier Wochen in Reinstwasser. Der Durchmesser der Hydrogele beträgt dabei ca. 2,7 cm. ....	87
Abbildung 4.1. 22: Kryo-REM Aufnahmen des getrübten Hydrogels B100. Links – Maßstab 10 µm; Rechts – Maßstab 1 µm.....	88
Abbildung 4.1. 23: Eigene Fotos vom 09.11.2020 bezüglich der Analytik zur induzierten Trübung unter Berücksichtigung der Hofmeister Serie. Links – nach Inkubation in 0,5 mol/L CaCl <sub>2</sub> Lösung und anschließender Erwärmung auf 70°C; rechts – analog in 0,5 mol/L Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	89
Abbildung 4.1. 24: Hofmeister Serie in Anlehnung an W. Kunz. <sup>222</sup> .....	90
Abbildung 4.1. 25: SAXS des Hydrogels B10. Enthalten sind dabei die aufgenommenen SAXS Daten (schwarz umrandete Kreise) und die Fit Kurven der generalisierten Ornstein-Zernike Methode. Im Falle des B10 sind Einflüsse von zwei Streuintensitäten zu erkennen. Details sind den theoretischen Grundlagen und dem Experimentalteil zu entnehmen. ....	91
Abbildung 4.1. 26: SAXS der Hydrogele der B-Reihe. Enthalten sind dabei die aufgenommenen SAXS Daten (schwarz umrandete Kreise) und die Fit Kurven der generalisierten Ornstein-Zernike Methode.....	91
Abbildung 4.1. 27: SAXS der Hydrogele S10 (links) und T10 (rechts). Enthalten sind dabei die aufgenommenen SAXS Daten (schwarz umrandete Kreise) und die Fit Kurven der generalisierten Ornstein-Zernike Methode.....	92
Abbildung 4.1. 28: Charakteristische Korrelationslängen (Maschenweiten $\xi$ ) und die „mesh compactness“ D. Bestimmt wurden diese mit Hilfe der generalisierten Ornstein-Zernike Methode. Details sind den theoretischen Grundlagen und dem Experimentalteil zu entnehmen. ....	92
Abbildung 4.1. 29: SAXS der Hydrogel der B-Reihe, S10 und T10. Enthalten sind dabei die aufgenommenen SAXS Daten der Hydrogele (schwarz umrandete Kreise) und die der Hydrogele synthetisiert während DLS-Messung (schwarze Kreise). Zudem ist die Modellierung der Daten mittels der generalisierten Ornstein-Zernike Methode (rot bzw. grün) dargestellt. Im Falle des B10 sind Einflüsse von zwei Streuintensitäten zu erkennen. Details sind den theoretischen Grundlagen und dem Experimentalteil zu entnehmen. ....	94
Abbildung 4.1. 30: Vergleich der charakteristischen Korrelationslängen (Maschenweiten $\xi$ ). Bestimmt wurden diese mit Hilfe der generalisierten Ornstein-Zernike Methode. ....	95
Abbildung 4.1. 31: Vergleich der „mesh compactness“ D. Bestimmt wurden diese mit Hilfe der generalisierten Ornstein-Zernike Methode. ....	95
Abbildung 4.1. 32: Vergleich der Moduli der Hydrogele synthetisiert in D <sub>2</sub> O (schwarz) und synthetisiert in Reinstwasser (blau). ....	96
Abbildung 4.1. 33: Darstellung der Temperaturabhängigkeit (T = 70 bzw. 100°C) der Ergebnisse des Satrecs. Links – Am Beispiel B10; Rechts – Am Beispiel von B100. Bei 100°C wurden jeweils zwei Messungen durchgeführt, wobei eine vor den weiteren nachfolgenden Messungen und eine nach den weiteren Messungen als letztes erfolgte.....	97
Abbildung 4.1. 34: Simultaner Fit (rote Linie) des FID (schwarz) mit Hahn-Echo (blau) von B10 mit MSE Erweiterung (rot) bei 70°C. Dazu wurde der FID als polyn. Interpolation (weiß) verwendet. ....	98
Abbildung 4.1. 35: Simultaner Fit (rote Linie) des FID (schwarz) mit Hahn-Echo (blau) mit MSE Erweiterung (rot) bei 70°C. Dazu wurde der FID als polyn. Interpolation (weiß) verwendet. Links – B50; Rechts – B100.....	99
Abbildung 4.1. 36: Simultaner Fit (rote Linie) des FID (schwarz) mit Hahn-Echo (blau) mit MSE Erweiterung (rot) bei 70°C. Dazu wurde der FID als polyn. Interpolation (weiß) verwendet. Links – S10; Rechts – T10.....	99
Abbildung 4.1. 37: Auftragung der normierten <i>Iref</i> (schwarz) und <i>IDQ</i> (grün) für das Hydrogel B10 bei 70°C vermessen. ....	101
Abbildung 4.1. 38: Auftragung der Differenz <i>Iref</i> und <i>IDQ</i> für das Hydrogel B10 vermessen bei 70°C. Außerdem ist der 2 Komponentenfit enthalten (rote Linie). ....	101
Abbildung 4.1. 39: Auftragung der normierten <i>InDQ</i> (rot) und <i>MQ – tail</i> (blau) für das Hydrogel B10 vermessen bei 70°C.....	102
Abbildung 4.1. 40: Auftragung der normierten <i>InDQ</i> (rot) und des dazugehörigen Fits für das Hydrogel B10 vermessen bei 70°C. ....	103
Abbildung 4.1. 41: Relative D <sub>res</sub> in Abhängigkeit von Protonen in der Seitenkette. Daten der Hexylacrylat-Kette von Wu et al. enthalten den Anteil von Poly(hexylacrylat) in Prozent. <sup>225</sup> .....	104
Abbildung 4.1. 42: Auftragung der berechneten Aufbaukurven der Monomere und angelegte Fit-Funktionen. Links – SPE mit einem monomodalen (hellgrüne Linie), bimodalen (grüne Linie) und bimodalen Fit ohne Verteilung (dunkelgrüne gestrichelte Linie); Rechts – Berechnete Aufbaukurven der Monomere SPE (schwarz), SPM (blau) und TMAEMA (rot) mit bimodalem Fit ohne Verteilung.....	104
Abbildung 4.2. 1: Bestimmung der kritischen Calciumkonzentration [Ca] <sup>P</sup> über einen sigmoidalen Boltzmann-Fit (rote Linie) der gemessenen Absorptionen bei 746 nm bei eingestellter Calciumionenkonzentrationen (schwarze Quadrate). ....	108
Abbildung 4.2. 2: pH-Wert Verläufe für 24 h während der Mineralisation von Calciumphosphat. ....	109
Abbildung 4.2. 3: Aufnahmen mittels Optischer Lichtmikroskopie der Mineralisation bei pH = 6 und einer Zugabe von 1 mg/mL TMBEMPA/Br: links – 10 min; mittig – 5 h; rechts 24 h. ....	110
Abbildung 4.2. 4: Rasterelektronenaufnahmen der Proben V6 (links) und V7,42 (rechts). Zu einer Mineralisationslösung wurden jeweils 1 mg/mL TMBEMPA/Br gegeben.....	111
Abbildung 4.2. 5: Infrarotspektren der Proben V6 und V7,42. Dabei wurde 1 mg/mL TMBEMPA/Br zur Mineralisationslösung bei pH = 6 (schwarz), pH = 7,42 (rot). gegeben. ....	112
Abbildung 4.2. 6: Vergleich der experimentellen Ramanspektren mit Literaturspektren. Links - Ramanspektren der Probe V6 mit 1 mg/mL TMBEMPA/Br zur Mineralisationslösung bei pH = 6 (schwarz) und Literaturspektrum	

von Brushit (DCPD) (grau, RRUFFID=R070554). Rechts - Ramanspektren der Probe V7,42 mit 1 mg/mL TMBEMPA/Br zur Mineralisationslösung bei pH = 7,42 (rot) und Literaturspektrum von Hydroxylapatit (HAP) (hellrot, RRUFFID=R130713). Die dabei aufgeführten $\nu$ entsprechen nicht den Meckeschen Symbolen, sondern kennzeichnen lediglich die Schwingung. ....	113
Abbildung 4.2. 7: Diffraktogramm der Proben V6 und V7,42. Dabei wurde 1 mg/mL TMBEMPA/Br zur Mineralisationslösung bei pH = 6 (schwarz), pH = 7,42 (rot). gegeben. ....	114
Abbildung 4.2. 8: Eigenes Foto vom 27.09.2019. Über das alternierende Eintauchverfahren bei pH 7,42 mineralisierte Hydrogel B100 ( $\varnothing$ 2,8 cm), B50 ( $\varnothing$ 2,8 cm) und B10 ( $\varnothing$ 3,2 cm) von links nach rechts. ....	116
Abbildung 4.2. 9: Repräsentative Abbildung der Mineralisationsverfolgung mittels optischer Lichtmikroskopie bei pH = 6. Links – B50 nach 4 h; Rechts – B100 nach 4 h. ....	117
Abbildung 4.2. 10: Repräsentative Abbildung der Mineralisationsverfolgung mittels optischer Lichtmikroskopie bei pH = 7,42 am Beispiel B100. ....	118
Abbildung 4.2. 11: Repräsentatives Raman-Spektrum am Beispiel des Hydrogels B100 (schwarz) und der Hybridmaterialien hergestellt bei pH = 7,42 (rot). ....	119
Abbildung 4.2. 12: Repräsentative Diffraktogramme der Hybridmaterialien B10 (schwarz), B50 (rot) und B100 (blau) mineralisiert bei pH = 7,42. ....	119
Abbildung 4.2. 13: Quantitative Analyse des anorg. Anteils im Hybridmaterial mittels TGA (links) und DTA (rechts) für die Mineralisation bei pH 7,42. ....	120
Abbildung 4.2. 14: Eigenes Foto vom 27.09.2019. Über das alternierende Eintauchverfahren mineralisierte Hydrogel am Beispiel B50. Links – bei pH = 6 ( $\varnothing$ 2,9 cm); Rechts – bei pH = 7,42 ( $\varnothing$ 2,8 cm). ....	121
Abbildung 4.2. 15: Vergleich der Diffraktogramme der Hybridmaterialien synthetisiert durch Variation des pH-Wertes im Bereich 6-9 am Beispiel des B100s. ....	122
Abbildung 4.2. 16: Eigenes Foto vom 10.10.2019 zur Variation der Mineralisationsparameter am Beispiel des B50s. Links - Erhöhung der Temperatur resultiert in einem kompakten weißen Überzug ( $\varnothing$ 2,9 cm). Rechts - Erhöhung der Konzentration bewirkt verstärkten Ausfall in Lösung, Überzug leicht abzulösen, Tiefenmineralisation erkennbar ( $\varnothing$ 3,9 cm). ....	124
Abbildung 4.2. 17: Diffraktogramme der Hybridmaterialien. Links – durch Erhöhung der Temperatur auf 37 °C; Rechts – durch Erhöhung der Konzentration auf 0,5 mol/L. ....	124
Abbildung 4.2. 18: Schematische Darstellung der Mineralisation im elektrischen Feld. ....	126
Abbildung 4.2. 19: Eigenes Foto vom 23.06.2016 zur Mineralisation im elektrischen Feld. ....	126
Abbildung 4.2. 20: Eigenes Foto vom 23.02.2018 zur makroskopischen Veränderung der Hybridmaterialien am Beispiel B100. Links- weißes Hybridmaterial mit unregelmäßiger Trübung im Gelinneren; Rechts – Transparentes Material mit Fettsstoffpartikeln im Gelinneren. ....	127
Abbildung 4.2. 21: Aufnahmen der optischen Lichtmikroskopie zur Mineralisation von Calciumcarbonat am Beispiel von B100. Links oben - sofort; Rechts oben - nach 1 h; Links unten – nach 4 h im Hydrogelinneren; Rechts unten– nach 24 h. ....	128
Abbildung 4.2. 22: Repräsentative positionsabhängige Ramanspektren der Hybridmaterialien mineralisiert mit $\text{CaCl}_2$ -Lsg. und $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lsg. am Beispiel von B100. Oben – Raman-Spektren an zwei Punkten; Unten links – Bestimmung des Punktes mit $x = 13$ und $y = 2$ bei $1090 \text{ cm}^{-1}$ ; Unten rechts - Bestimmung des Punktes mit $x = 50$ und $y = 27$ bei $1048 \text{ cm}^{-1}$ . ....	129
Abbildung 4.2. 23: Diffraktogramme der Hybridmaterialien mineralisiert mit $\text{CaCl}_2$ -Lsg. und $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lsg.. Links-zuerst die $\text{Ca}^{2+}$ -Lsg.; Rechts: zuerst $\text{CO}_3^{2-}$ -Lsg.. ....	130
Abbildung 4.2. 24: Eigenes Foto vom 10.10.2019 des Hydrogels B10 mineralisiert mit $\text{CaCl}_2$ -Lsg. und $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lsg. bei 37°C. ....	131
Abbildung 4.2. 25: Diffraktogramme der Hybridmaterialien mineralisiert mit $\text{CaCl}_2$ -Lsg. und $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lsg.. bei erhöhter Temperatur. ....	132
Abbildung 4.2. 26: TGA Kurven der Hybridmaterialien mit Calciumcarbonat: Links – erst $\text{CaCl}_2$ -Lsg. 0,1 M; Rechts – zuerst $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 0,1 M. ....	133
Abbildung 4.3. 1: Auftragung des Speichermoduls $E'$ der Geltypen B10, B50 und B100 in verschiedenen Medien. Blau – Wasser; Rot – 70% EtOH; Grün - PBS; Schwarz – DMEM. ....	136
Abbildung 4.3. 2: Stereomikroskopische Aufnahmen der Geltypen B10, B50 und B100 in verschiedenen Medien. Maßstab: keine Angaben vom Kooperationspartner erhalten. ....	137
Abbildung 4.3. 3: Serielle Schnitte (16 $\mu\text{m}$ ) von B50 in PBS. Maßstab: 500 $\mu\text{m}$ . ....	138
Abbildung 4.3. 4: Auf den Phagen Wildtyp (WT) normierte Bindungsstärke der 12-mer Peptide (links) und 7-mer (rechts) zur Hydrogeloberfläche von B10 mittels Bindungsassay. Detaillierte Beschreibung der Peptidsequenzen sind dem Anhang C zu entnehmen. ....	140
Abbildung 4.3. 5: Auftragung der Fluoreszenzintensität gegen die Zeit. Schwarz – Messung mit der schlechter bindenden Peptidsequenz TVNFKLY-Rhodamin – B; Rot – mit der besser bindenden Peptidsequenz QQTNWSL – Rhodamin B. ....	142
Abbildung 4.3. 6: Auftragung der Dopplungsrate von <i>S.aureus</i> (links) und <i>E. coli</i> (rechts) und in Abhängigkeit der Monomerkonzentration von SPE, SPM und TMAEMA. Der Einfluss von TMBEMPA/Br konnte nicht näher analysiert werden, da es zu einer konzentrationsabhängigen Extinktion bei 600 nm infolge einer Trübung des Mediums kam. ....	143
Abbildung 4.3. 7: Aufnahme der <i>Dictyostelium discoideum</i> (Amöben) mittels Fluoreszenzmikroskopie nach 24 h Inkubation mit B100. blau – 4',6-Diamidin-2-phenylindol (DAPI) Fluoreszenzfarbstoff; rot – YL1/2 und Anti-Ratte-Antikörper Alexa Fluor® 568 Fluoreszenzfarbstoff; grün – autofluoreszierendes GFP und Phalloidin-Alexa Fluor® 543 Fluoreszenzfarbstoff. ....	144

Abbildung 4.3. 8: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der Fibroblasten markiert mit Calcein. Anmerkung: die grüne bzw. gelbe Einfärbung dient lediglich der Kontrastierung und besitzt keine Bedeutung. ....	146
Abbildung 4.3. 9: Ergebnisse des Zytotoxizitätstest mittels MTT-Test. Als Kontrolle wurde reines Medium verwendet. Die Prozentangaben auf der Abszisse bezeichnen die Konzentrationen des Extraktmediums nach Inkubation mit Hydrogel B10.....	147
Abbildung 4.3. 10: Aufnahmen der Hydrogelle der B-Reihe mit Saos-2 Zellen mit Maßstab 200 µm: a) Vor der Kultivierung mit Saos-2 Zellen; b) Kontrollprobe auf Polystyrol; c) Nach 1, 2 und 7 Tagen und eine Kultivierung mit Saos-2 Zellen. ....	148
Abbildung 4.3. 11: Differentialinterferenzkontrastaufnahmen der Hydrogele B10, B50 und B100 und inkubierter Saos-2 Zellen. Als Färbemittel des Nukleus wurde DAPI zur Markierung der DNS verwendet. ....	150
Abbildung 4.3. 12: Zytotoxizitätstest mittels WST-8 mit dem Einfluss von Hydrogelen auf Chondrozyten. Als Negativkontrolle dienten „Sphäroide“ und als Positivkontrolle „Sphäroide“ behandelt mit 20 % DMSO. Die Verbindungslinien dienen nur der Übersicht und repräsentieren keinen gradlinigen Verlauf zwischen den einzelnen Messpunkten. ....	151
Abbildung 4.3. 13: Zytotoxizitätstest mittels ATP-Messung mit dem Einfluss von Hydrogelen auf Chondrozyten. Als Negativkontrolle dienten „Sphäroide“ und als Positivkontrolle „Sphäroide“ behandelt mit 20 % DMSO. ....	152
Abbildung 4.4. 1: Kryo-REM Aufnahmen der Hydrogele mittels Redoxinitiation. links – Netzwerk des Hydrogels durch Synthese bei RT; rechts – Netzwerk des Kryogels durch Synthese bei -32°C. ....	156
Abbildung 4.4. 2: Eigenes Foto vom 04.05.2021 vom Kryogel in diversen Medien für 1 d gequollen. Blau: Methylenblau; Orange: Methylorange; Rosa: DMEM; Grün; Bromthymolblau. Bei Zugabe von HCl (aq) kann der Farbumschlag nach Orange beobachtet werden. Dies ist mit NaOH (aq) reversibel. Durchmesser der Kryogele ca. 2,3 cm. ....	156
Abbildung 4.4. 3: Vergleich der Spektren am Beispiel einer Messung; links – Methylorange (MO) nach 0 (schwarz) und 24 h (rot); rechts – Methylenblau nach 0 (schwarz) und 24 h (rot). Jeweils enthalten sind eigene Fotos vom Mai 2020 der dazugehörigen gemessenen Küvetten mit 200 µL Probenlösung und 1,8 mL Reinstwasser. ....	157
Abbildung 4.4. 4: Auftragung der Masse an org. Farbstoff in Lösung in Abhängigkeit von der Zeit; links – MO; rechts – MB. ....	158
Abbildung 4.4. 5: Eigenen Fotos vom Mai 2020 zur Demonstration der selektiven Adsorption von MO gegenüber MB. Links – Küvetten mit den gemessenen Lösungen mit 200 µL Probenlösung und 1,8 mL Reinstwasser. Die linke Küvette enthält die Probenlösung zu Beginn der Experimente und die rechte Küvette die Lösung mit der Probenlösung nach 24 h. Rechts – Kryogel zu Beginn des Experimentes (links) und nach 24 h (rechts). ....	160
Abbildung 4.4. 6: Zusammenfassung der Ergebnisse der selektiven MO Adsorption. Links - Vergleich der Spektren am Beispiel einer Messung; Rechts - Auftragung der Masse an org. Farbstoff in Lösung in Abhängigkeit von der Zeit.....	160
Abbildung 4.4. 7: Eigene Fotos der Hydrogelmembran photo B50. Links- Im Gleichgewichtsquellzustand mit einem Durchmesser von 7,7 cm; Rechts: Als Xerogel mit einem Durchmesser von 4,7 cm und einer Dicke von 1 mm. ....	162
Abbildung 4.4. 8: Analyse der Netzwerkstruktur von photoB50 mittels Kryo-REM. ....	163
Abbildung 4.4. 9: FT-ATR-IR-Spektrum (links) und TGA-Verlauf (rechts) vom Material photoB50.....	164
Abbildung 4.4. 10: Eigenes Foto vom 16.06.2021 der Hydrogelmembran photo B50 mit Beimengung von HAP. ....	164
Abbildung 4.4. 11: FT-ATR-IR-Spektrum (links) und TGA-Verlauf (rechts) von der methacrylierten Gelatine.....	166
Abbildung 4.4. 12: Analyse der Netzwerkstruktur von G100 (links) und G50 (rechts) mittels Kryo-REM. ....	167
Abbildung 4.4. 13: FT-ATR-IR-Spektrum von G50 (links) und TGA-Verläufe der gemischten Hydrogele G50 und G100 (rechts).....	167
Abbildung 4.4. 14: Eigene Fotos vom 06.06.2016 und 29.09.2017 von betainbasierten Hydrogelen auf verschiedenen Oberflächen. Links – Titan mit dem Durchmesser von 1 cm; Rechts – 3D gedrucktes PLA mit dem Durchmesser von 1 cm.....	168
Abbildung 4.4. 15: Übersichtsreaktionsschema zur Oberflächenmodifikation von Silizium-Wafern mittels methacryliertem Silan. ....	169
Abbildung 4.4. 16: Eigenes Foto vom 04.05.2021 des Si-Wafers (2· 1 cm) photopolymerisiert mit SPE und TMBEMPA/Br. ....	169
Abbildung 4.4. 17: Eigene Fotos von S100 in Zusammenhang mit superabsorbierenden Polymeren. Gequollenen Hydrogel (links) und Reihenfolge des homogenisierten Xerogels nach Zugabe von 0 mL, 1 mL und 30 mL. ....	171

## Kapitel 5

Abbildung 5. 1: Kritische Fällungskonzentration bestimmt mittels Trübungstitration von 2SBF und CaCl <sub>2</sub> (aq) ohne Monomierzusatz (Blindprobe) und mit Monomeren (SPE und SPM) und Vernetzer (TMBEMPA/Br). Bei PSPE und PSPM handelt es sich um Literaturwerte in Anlehnung an Mai et al. <sup>82,84</sup> .....	177
---	-----

## Kapitel 6

Abbildung 6. 1: Schematische Zusammenfassung der in dieser Arbeit entwickelten Systeme, Forschungsschwerpunkte und deren Anwendungsgebiet. ....	186
Abbildung 6. 2: Schematische Darstellung der Matrix kontrollierten Mineralisation von Hydrogelen der B-Reihe mit Calciumphosphat über das alternierende Eintauchverfahren. ....	189
Abbildung 6. 3: Schematische Darstellung der grundlegenden Projektidee auf Basis der Ergebnisse dieser Dissertation. braun – Thematische Ergebnisse dieser Dissertation; schwarz – aus diesen Ergebnissen resultierende neue Aspekte; blau – neues System; grün – Anwendungsgebiet. ....	194

## Kapitel 7

Abbildung 7. 1: IR-Spektrum des Vernetzers TMBEMPA/Br. ....	199
Abbildung 7. 2: Thermogramm des Vernetzers TMBEMPA/Br im Temperaturbereich 0 bis 200°C. ....	200

## Kapitel 8

Abbildung 8. 1: Schematische Darstellung der Pulssequenzen. A – FID <sup>410</sup> ; B – FID ohne Totzeit durch Verwendung eines MSE <sup>410</sup> ; C – Hahn-Echo-Experiment <sup>311</sup> zur Eliminierung von Messungenauigkeiten aufgrund inhomogener Magnetfelder; D – stark vereinfachte Darstellung eines MQ-Experimentes <sup>310</sup> .....	215
Abbildung 8. 2: Eigenes Foto vom 26.05.2020 vom generellen Aufbau der Adsorptionsmessungen. Links – Kompletter Aufbau mit dem Kryogel auf einem 3D gedruckten Tisch aus PP. Unterhalb des Tisches wurde ein magnetisches Rührstäbchen platziert. Rechts – Nahaufnahme des 3D gedruckten PP-Tisches. ....	226
Abbildung 8. 3: Eigenes Foto vom 06.03.2019 der Osmosekammer. ....	226

## Anhang

Abbildung A 1: Thermogramme des Hydrogels B10 bei unterschiedlichen Heizraten. ....	ix
Abbildung A 2: Thermogramme des Hydrogels B50 bei unterschiedlichen Heizraten. ....	ix
Abbildung A 3: Thermogramme des Hydrogels B100 bei unterschiedlichen Heizraten. ....	ix
Abbildung A 4: Thermogramme des Hydrogels S10 bei unterschiedlichen Heizraten. links 1 K/min; rechts – 10 K/min. Anmerkung: Daten von Anne-C. Lehnen <sup>158</sup> . ....	x
Abbildung A 5: Thermogramme des Hydrogels T10 bei unterschiedlichen Heizraten. ....	x
Abbildung A 6: Darstellung der Temperaturabhängigkeit (T = 70 bzw. 100°C) der Ergebnisse des Satrecs am Beispiel B50. Bei 100°C wurden jeweils zwei Messungen durchgeführt, wobei eine vor den weiteren nachfolgenden Messungen und eine nach den weiteren Messungen als letztes erfolgte. ....	x
Abbildung A 7: Darstellung der Temperaturabhängigkeit (T = 70 bzw. 100°C) der Ergebnisse des Satrecs. Links – Am Beispiel S10; Rechts – Am Beispiel von T10. Bei 100°C wurden jeweils zwei Messungen durchgeführt, wobei eine vor den weiteren nachfolgenden Messungen und eine nach den weiteren Messungen als letztes erfolgte ....	xi

## V. Tabellenverzeichnis

### Kapitel 2

Tabelle 2. 1: Zusammenstellung ausgewählter Calciumphosphate in Anlehnung an <sup>64,83,86,112</sup> .....	8
Tabelle 2. 2: Modifikationen des Calciumcarbonats in Anlehnung an <sup>86,90</sup> .....	13

### Kapitel 4

Tabelle 4.1. 1: Makroskopische Charakterisierung der optimierten Gele im Gleichgewichtsquellzustand über äußeres Erscheinungsbild, Durchmesser, Dicke und Gewicht. ....	63
Tabelle 4.1. 2: Charakterisierung der Gelpunkte mittels umgekehrter Röhrenmethode <sup>212,213</sup> und zeitaufgelöster dynamischer Lichtstreuung (TR-DLS). ....	64
Tabelle 4.1. 3: Zusammensetzung der verschiedenen Hydrogele. a) bestimmt mittels Elementaranalyse bezogen auf die Trockenmasse. ....	69
Tabelle 4.1. 4: Zusammenfassung der Daten aus den Thermogrammen des zweiten Zyklus aufgenommen mit einer Heizrate von 1 K /min. ....	72
Tabelle 4.1. 5: Zusammenfassung der Ergebnisse der Rheometrie. Darin enthalten das Speichermodul $G'$ , das Verlustmodul $G''$ , der Verlustfaktor $\tan \delta$ und die komplexe Viskosität $\eta^*$ für die Hydrogele der B-Reihe, S10 und T10. ....	76
Tabelle 4.1. 6: Zusammenfassung der Ergebnisse der Rheometrie. Darin enthalten das Speichermodul $G'$ , das Verlustmodul $G''$ , der Verlustfaktor $\tan \delta$ und die komplexe Viskosität $\eta^*$ für die Hydrogele B100 nach 24 h in Reinstwasser und nach ca. vier Wochen. ....	88
Tabelle 4.1. 7: Spin-Spin Relaxation $T_2$ und deren Anteile bestimmt über den globalen Fit des FID und Hahn Echos. ....	100
Tabelle 4.1. 8: Zusammenfassung der ermittelten nicht-elastischen Defekte [%] für die Hydrogele der B-Reihe, S10 und T10. ....	102
Tabelle 4.1. 9: Zusammenfassung der ermittelten $D_{med}/2\pi$ [Hz] und dessen Standardabweichung $\sigma_{in}$ für die Hydrogele der B-Reihe, S10 und T10 ermittelt mit monomerspezifischen Fitfunktionen bei 70°C. ....	105
Tabelle 4.2. 1: Quantitative Analytik mittels TGA. Bestimmung der Restmasse in Abhängigkeit vom pH-Wert während der Mineralisation. ....	123
Tabelle 4.2. 2: Quantitative Analytik mittels TGA. Bestimmung der Restmasse in Abhängigkeit vom Mineralisationsparameter Ionenreihenfolge, Konzentration oder Temperatur. ....	125
Tabelle 4.2. 3: Quantitative Analytik mittels TGA. Bestimmung der Restmasse in Abhängigkeit vom Mineralisationsparameter Ionenreihenfolge, Konzentration oder Temperatur. ....	133
Tabelle 4.3. 1: Durchmesser der Geltypen B10, B50 und B100 in unterschiedlichen Medien. ....	136
Tabelle 4.4. 1: Vergleich der Masse an org. Farbstoff in der Lösung zu Beginn der Messung (0 h), nach 7 h und nach 24 h. ....	159
Tabelle 4.4. 2: Kapazität der Sorption $q$ [mg/g] nach 7 h und 24 h für die einzelnen Farbstoffe. ....	159
Tabelle 4.4. 3: Kapazität der Sorption $q$ [mg/g] nach 7 h und 24 h für die einzelnen Farbstoffe in einer 1:1 Mischung. ....	161

### Kapitel 7

Tabelle 7.1. 1: Ansatzgröße für die Synthese von TMBEMPA/Br. ....	198
Tabelle 7.2. 1: Ansatzgrößen für die Optimierung der Gelsynthese. ....	202
Tabelle 7.3. 1: Optimierte Ansatzgrößen für die Hydrogelsynthese mittels freier radikalischer Photopolymerisation. ....	205
Tabelle 7.3. 2: Optimierte Ansatzgrößen für die Hydrogelsynthese mit methacrylierter Gelatine über eine freie radikalischer Photopolymerisation. ....	206
Tabelle 7.4. 1: Ansatzgrößen für die Hydrogelsynthese mittels redoxinitiiertes freier radikalischer Polymerisation. Alle Ansätze liefern Kryogele, jedoch wurde für weitere Messungen lediglich Ansatz 1 aufgrund von Stabilitätsunterschieden verwendet. ....	207
Tabelle 7.5. 1: Zusammensetzung des Sørensenpuffers für 1000 mL pro Teillösung. <sup>410</sup> ....	209

### Anhang

Tabelle C 1: Ausgewählte Phagenklone zur Ermittlung der Bindungsstärke und dessen Aminosäuresequenz sowohl im Einbuchstaben-Code als auch Dreibuchstaben-Code und dessen generelle Zusammensetzung der Aminosäure (AS). * Grün – N-terminale AS und Blau – C-terminale AS. ....	xiii
---	------

## VI. Literaturverzeichnis

- (1) Alemán, J. V.; Chadwick, A. V.; He, J.; Hess, M.; Horie, K.; Jones, R. G.; Kratochvíl, P.; Meisel, I.; Mita, I.; Moad, G.; Penczek, S.; Stepto, R. F. T. Definitions of Terms Relating to the Structure and Processing of Sols, Gels, Networks, and Inorganic-Organic Hybrid Materials (IUPAC Recommendations 2007). *Pure Appl. Chem.* **2007**, *79* (10), 1801–1829. <https://doi.org/10.1351/pac200779101801>.
- (2) *Pampers*. <https://www.pampers.de/uber-pampers/fur-jedes-baby-sorgen/artikel/woraus-bestehen-pampers-windeln-hoschenwindeln-oder-feuchttucher>. Letzter Zugriff: 13.03.2023
- (3) *Gothaplast*. <http://www.gothaplast.de/index.php?id=54>. Letzter Zugriff: 13.03.2023
- (4) *Bausch&Lomb*. <https://www.bausch-lomb.de/produkte/kontaktlinsen/bausch-lomb-ultra/>. Letzter Zugriff: 13.03.2023
- (5) *Duden*. <https://www.duden.de/rechtschreibung/Goetterspeise>. Letzter Zugriff: 13.03.2023
- (6) Aljghami, M. E.; Saboor, S.; Amini-Nik, S. Emerging Innovative Wound Dressings. *Ann. Biomed. Eng.* **2019**, *47* (3), 659–675. <https://doi.org/10.1007/s10439-018-02186-w>.
- (7) Kamoun, E. A.; Kenawy, E.-R. S.; Chen, X. A Review on Polymeric Hydrogel Membranes for Wound Dressing Applications: PVA-Based Hydrogel Dressings. *J. Adv. Res.* **2017**, *8* (3), 217–233. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.01.005>.
- (8) Xiang, J.; Shen, L.; Hong, Y. Status and Future Scope of Hydrogels in Wound Healing: Synthesis, Materials and Evaluation. *Eur. Polym. J.* **2020**, *130*, 109609. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109609>.
- (9) Hasan, A. M. A.; Abdel-Raouf, M. E.-S. Cellulose-Based Superabsorbent Hydrogels; **2018**; pp 1–23. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-76573-0\\_11-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-76573-0_11-1).
- (10) Behera, S.; Mahanwar, P. A. Superabsorbent Polymers in Agriculture and Other Applications: A Review. *Polym. Technol. Mater.* **2020**, *59* (4), 341–356. <https://doi.org/10.1080/25740881.2019.1647239>.
- (11) Ghobashy, M. M. Superabsorbent. In *Hydrogels*; InTech, **2018**. <https://doi.org/10.5772/intechopen.74698>.
- (12) Klein, M.; Poverenov, E. Natural Biopolymer-based Hydrogels for Use in Food and Agriculture. *J. Sci. Food Agric.* **2020**, *100* (6), 2337–2347. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10274>.
- (13) Wang, J.; Gao, S.; Tian, J.; Cui, F.; Shi, W. Recent Developments and Future Challenges of Hydrogels as Draw Solute in Forward Osmosis Process. *Water* **2020**, *12* (3), 692. <https://doi.org/10.3390/w12030692>.
- (14) Zhou, X.; Guo, Y.; Zhao, F.; Yu, G. Hydrogels as an Emerging Material Platform for Solar Water Purification. *Acc. Chem. Res.* **2019**, *52* (11), 3244–3253. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00455>.
- (15) Tran, T. N. T.; Chung, H.-J.; Ivey, D. G. A Study of Alkaline Gel Polymer Electrolytes for Rechargeable Zinc–Air Batteries. *Electrochim. Acta* **2019**, *327*, 135021. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.135021>.
- (16) Zhalmuratova, D.; Chung, H.-J. Reinforced Gels and Elastomers for Biomedical and Soft Robotics Applications. *ACS Appl. Polym. Mater.* **2020**, *2* (3), 1073–1091. <https://doi.org/10.1021/acsapm.9b01078>.
- (17) Huang, H.; Han, L.; Fu, X.; Wang, Y.; Yang, Z.; Pan, L.; Xu, M. Multiple Stimuli Responsive and Identifiable Zwitterionic Ionic Conductive Hydrogel for Bionic Electronic Skin. *Adv. Electron. Mater.* **2020**, *6* (7), 2000239. <https://doi.org/10.1002/aelm.202000239>.
- (18) Shay, T.; Velev, O. D.; Dickey, M. D. Soft Electrodes Combining Hydrogel and Liquid Metal. *Soft Matter* **2018**, *14* (17), 3296–3303. <https://doi.org/10.1039/C8SM00337H>.
- (19) Kim, C.-C.; Lee, H.-H.; Oh, K. H.; Sun, J.-Y. Highly Stretchable, Transparent Ionic Touch Panel. *Science (80-. )*. **2016**, *353* (6300), 682–687. <https://doi.org/10.1126/science.aaf8810>.
- (20) Yuk, H.; Lu, B.; Zhao, X. Hydrogel Bioelectronics. *Chem. Soc. Rev.* **2019**, *48* (6), 1642–1667. <https://doi.org/10.1039/C8CS00595H>.

- (21) Tavakoli, J.; Tang, Y. Hydrogel Based Sensors for Biomedical Applications: An Updated Review. *Polymers (Basel)*. **2017**, *9* (12), 364. <https://doi.org/10.3390/polym9080364>.
- (22) Sun, X.; Agate, S.; Salem, K. S.; Lucia, L.; Pal, L. Hydrogel-Based Sensor Networks: Compositions, Properties, and Applications—A Review. *ACS Appl. Bio Mater.* **2021**, *4* (1), 140–162. <https://doi.org/10.1021/acsabm.0c01011>.
- (23) Mateescu, A.; Wang, Y.; Dostalek, J.; Jonas, U. Thin Hydrogel Films for Optical Biosensor Applications. *Membranes (Basel)*. **2012**, *2* (1), 40–69. <https://doi.org/10.3390/membranes2010040>.
- (24) Ionov, L. Hydrogel-Based Actuators: Possibilities and Limitations. *Mater. Today* **2014**, *17* (10), 494–503. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2014.07.002>.
- (25) Cheng, F.; Chen, H.; Li, H. Recent Progress on Hydrogel Actuators. *J. Mater. Chem. B* **2021**, *9* (7), 1762–1780. <https://doi.org/10.1039/D0TB02524K>.
- (26) Shang, J.; Le, X.; Zhang, J.; Chen, T.; Theato, P. Trends in Polymeric Shape Memory Hydrogels and Hydrogel Actuators. *Polym. Chem.* **2019**, *10* (9), 1036–1055. <https://doi.org/10.1039/C8PY01286E>.
- (27) Bertz, A.; Wöhl-Bruhn, S.; Miethe, S.; Tiersch, B.; Koetz, J.; Hust, M.; Bunjes, H.; Menzel, H. Encapsulation of Proteins in Hydrogel Carrier Systems for Controlled Drug Delivery: Influence of Network Structure and Drug Size on Release Rate. *J. Biotechnol.* **2013**, *163* (2), 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.06.036>.
- (28) Sun, Z.; Song, C.; Wang, C.; Hu, Y.; Wu, J. Hydrogel-Based Controlled Drug Delivery for Cancer Treatment: A Review. *Mol. Pharm.* **2020**, *acs.molpharmaceut.9b01020*. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b01020>.
- (29) *Hydrogels*; Singh, T. R. R., Laverty, G., Donnelly, R., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis Group, **2018**. <https://doi.org/10.1201/9781315152226>.
- (30) Peppas, N. Hydrogels in Pharmaceutical Formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2000**, *50* (1), 27–46. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(00\)00090-4](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(00)00090-4).
- (31) Yue, S.; He, H.; Li, B.; Hou, T. Hydrogel as a Biomaterial for Bone Tissue Engineering: A Review. *Nanomaterials* **2020**, *10* (8), 1511. <https://doi.org/10.3390/nano10081511>.
- (32) Ng, J. Y.; Obuobi, S.; Chua, M. L.; Zhang, C.; Hong, S.; Kumar, Y.; Gokhale, R.; Ee, P. L. R. Biomimicry of Microbial Polysaccharide Hydrogels for Tissue Engineering and Regenerative Medicine – A Review. *Carbohydr. Polym.* **2020**, *241*, 116345. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116345>.
- (33) Spicer, C. D. Hydrogel Scaffolds for Tissue Engineering: The Importance of Polymer Choice. *Polym. Chem.* **2020**, *11* (2), 184–219. <https://doi.org/10.1039/C9PY01021A>.
- (34) Saroia, J.; Yanen, W.; Wei, Q.; Zhang, K.; Lu, T.; Zhang, B. A Review on Biocompatibility Nature of Hydrogels with 3D Printing Techniques, Tissue Engineering Application and Its Future Prospective. *Bio-Design Manuf.* **2018**, *1* (4), 265–279. <https://doi.org/10.1007/s42242-018-0029-7>.
- (35) Correa, S.; Grosskopf, A. K.; Lopez Hernandez, H.; Chan, D.; Yu, A. C.; Stapleton, L. M.; Appel, E. A. Translational Applications of Hydrogels. *Chem. Rev.* **2021**, *121* (18), 11385–11457. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c01177>.
- (36) Li, J.; Wu, C.; Chu, P. K.; Gelinsky, M. 3D Printing of Hydrogels: Rational Design Strategies and Emerging Biomedical Applications. *Mater. Sci. Eng. R Reports* **2020**, *140*, 100543. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2020.100543>.
- (37) Caló, E.; Khutoryanskiy, V. V. Biomedical Applications of Hydrogels: A Review of Patents and Commercial Products. *Eur. Polym. J.* **2015**, *65*, 252–267. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.11.024>.

- (38) Lima, C. S. A. de; Balogh, T. S.; Varca, J. P. R. O.; Varca, G. H. C.; Lugão, A. B.; A. Camacho-Cruz, L.; Bucio, E.; Kadlubowski, S. S. An Updated Review of Macro, Micro, and Nanostructured Hydrogels for Biomedical and Pharmaceutical Applications. *Pharmaceutics* **2020**, *12* (10), 970. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12100970>.
- (39) Kopeček, J. Hydrogel Biomaterials: A Smart Future? *Biomaterials* **2007**, *28* (34), 5185–5192. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.07.044>.
- (40) *Polymeric Gels: Characterization, Properties and Biomedical Applications*; Pal Kunal, Banerjee Indranil, Eds.; Woodhead Publishing Series in Biomaterials, **2018**.
- (41) *Hydrogels*; Thakur, V. K., Thakur, M. K., Eds.; Gels Horizons: From Science to Smart Materials; Springer Singapore: Singapore, **2018**. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-6077-9>.
- (42) Chafran, L.; Carfagno, A.; Altalhi, A.; Bishop, B. Green Hydrogel Synthesis: Emphasis on Proteomics and Polymer Particle-Protein Interaction. *Polymers (Basel)*. **2022**, *14* (21), 4755. <https://doi.org/10.3390/polym14214755>.
- (43) Ahmed, E. M. Hydrogel: Preparation, Characterization, and Applications: A Review. *J. Adv. Res.* **2015**, *6* (2), 105–121. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006>.
- (44) Mathur, A. M.; Moorjani, S. K.; Scranton, A. B. Methods for Synthesis of Hydrogel Networks: A Review. *J. Macromol. Sci. Part C Polym. Rev.* **1996**, *36* (2), 405–430. <https://doi.org/10.1080/15321799608015226>.
- (45) Bashir, S.; Hina, M.; Iqbal, J.; Rajpar, A. H.; Mujtaba, M. A.; Alghamdi, N. A.; Wageh, S.; Ramesh, K.; Ramesh, S. Fundamental Concepts of Hydrogels: Synthesis, Properties, and Their Applications. *Polymers (Basel)*. **2020**, *12* (11), 2702. <https://doi.org/10.3390/polym12112702>.
- (46) Utech, S.; Boccaccini, A. R. A Review of Hydrogel-Based Composites for Biomedical Applications: Enhancement of Hydrogel Properties by Addition of Rigid Inorganic Fillers. *J. Mater. Sci.* **2016**, *51* (1), 271–310. <https://doi.org/10.1007/s10853-015-9382-5>.
- (47) Tokarev, I.; Minko, S. Stimuli-Responsive Hydrogel Thin Films. *Soft Matter* **2009**, *5* (3), 511–524. <https://doi.org/10.1039/B813827C>.
- (48) Tanaka, M.; Nakahata, M.; Linke, P.; Kaufmann, S. Stimuli-Responsive Hydrogels as a Model of the Dynamic Cellular Microenvironment. *Polym. J.* **2020**, *52* (8), 861–870. <https://doi.org/10.1038/s41428-020-0353-6>.
- (49) Pardeshi, S.; Damiri, F.; Zehravi, M.; Joshi, R.; Kapare, H.; Prajapati, M. K.; Munot, N.; Berrada, M.; Giram, P. S.; Rojekar, S.; Ali, F.; Rahman, M. H.; Barai, H. R. Functional Thermoresponsive Hydrogel Molecule to Material Design for Biomedical Applications. *Polymers (Basel)*. **2022**, *14* (15), 3126. <https://doi.org/10.3390/polym14153126>.
- (50) Lloyd, D. J. *The Problem of Gel Structure*, Colloid Ch.; Alexander, J., Ed.; Chemical Catalogue Company: New York, **1926**.
- (51) Almdal, K.; Dyre, J.; Hvidt, S.; Kramer, O. Towards a Phenomenological Definition of the Term 'Gel.' *Polym. Gels Networks* **1993**, *1* (1), 5–17. [https://doi.org/10.1016/0966-7822\(93\)90020-I](https://doi.org/10.1016/0966-7822(93)90020-I).
- (52) Raghuwanshi, V. S.; Garnier, G. Characterisation of Hydrogels: Linking the Nano to the Microscale. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2019**, *274*, 102044. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.102044>.
- (53) Kaberova, Z.; Karpushkin, E.; Nevoralová, M.; Vetrík, M.; Šlouf, M.; Dušková-Smrčková, M. Microscopic Structure of Swollen Hydrogels by Scanning Electron and Light Microscopies: Artifacts and Reality. *Polymers (Basel)*. **2020**, *12* (3), 578. <https://doi.org/10.3390/polym12030578>.
- (54) Brannon-Peppas, L.; Peppas, N. A. The Equilibrium Swelling Behavior of Porous and Non-Porous Hydrogels; **1990**; pp 67–102. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-88654-5.50009-1>.
- (55) Oyen, M. L. Mechanical Characterisation of Hydrogel Materials. *Int. Mater. Rev.* **2014**, *59* (1), 44–59. <https://doi.org/10.1179/1743280413Y.0000000022>.

- (56) Reguieg, F.; Ricci, L.; Bouyacoub, N.; Belbachir, M.; Bertoldo, M. Thermal Characterization by DSC and TGA Analyses of PVA Hydrogels with Organic and Sodium MMT. *Polym. Bull.* **2020**, *77* (2), 929–948. <https://doi.org/10.1007/s00289-019-02782-3>.
- (57) Dörfler, H.-D. *Grenzflächen Und Kolloid-Disperse Systeme*; Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2002**.
- (58) Barrios, E.; Fox, D.; Li Sip, Y. Y.; Catarata, R.; Calderon, J. E.; Azim, N.; Afrin, S.; Zhang, Z.; Zhai, L. Nanomaterials in Advanced, High-Performance Aerogel Composites: A Review. *Polymers (Basel)*. **2019**, *11* (4), 726. <https://doi.org/10.3390/polym11040726>.
- (59) Peppas, N. A.; Hoffman, A. S. Hydrogels. In *Biomaterials Science*; Elsevier, **2020**; pp 153–166. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816137-1.00014-3>.
- (60) Hua, M.; Wu, S.; Ma, Y.; Zhao, Y.; Chen, Z.; Frenkel, I.; Strzalka, J.; Zhou, H.; Zhu, X.; He, X. Strong Tough Hydrogels via the Synergy of Freeze-Casting and Salting Out. *Nature* **2021**, *590* (7847), 594–599. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03212-z>.
- (61) Grenier, J.; Duval, H.; Barou, F.; Lv, P.; David, B.; Letourneur, D. Mechanisms of Pore Formation in Hydrogel Scaffolds Textured by Freeze-Drying. *Acta Biomater.* **2019**, *94*, 195–203. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.05.070>.
- (62) Li, Q.; Xu, S.; Feng, Q.; Dai, Q.; Yao, L.; Zhang, Y.; Gao, H.; Dong, H.; Chen, D.; Cao, X. 3D Printed Silk-Gelatin Hydrogel Scaffold with Different Porous Structure and Cell Seeding Strategy for Cartilage Regeneration. *Bioact. Mater.* **2021**, *6* (10), 3396–3410. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.03.013>.
- (63) Shibayama, M. Structure-Mechanical Property Relationship of Tough Hydrogels. *Soft Matter* **2012**, *8* (31), 8030. <https://doi.org/10.1039/c2sm25325a>.
- (64) Dorozhkin, S. V.; Epple, M. Die Biologische Und Medizinische Bedeutung von Calciumphosphaten. *Angew. Chemie* **2002**, *114* (17), 3260–3277. [https://doi.org/10.1002/1521-3757\(20020902\)114:17<3260::AID-ANGE3260>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/1521-3757(20020902)114:17<3260::AID-ANGE3260>3.0.CO;2-S).
- (65) Xue, X.; Hu, Y.; Deng, Y.; Su, J. Recent Advances in Design of Functional Biocompatible Hydrogels for Bone Tissue Engineering. *Adv. Funct. Mater.* **2021**, *31* (19), 2009432. <https://doi.org/10.1002/adfm.202009432>.
- (66) Munro, N. H.; McGrath, K. M. Hydrogels as Biomimetic Mineralisation Scaffolds. *Bioinspired, Biomim. Nanobiomaterials* **2012**, *1* (1), 26–37. <https://doi.org/10.1680/bbn.11.00003>.
- (67) Zainal, S. H.; Mohd, N. H.; Suhaili, N.; Anuar, F. H.; Lazim, A. M.; Othaman, R. Preparation of Cellulose-Based Hydrogel: A Review. *J. Mater. Res. Technol.* **2021**, *10*, 935–952. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.12.012>.
- (68) Shen, X.; Shamshina, J. L.; Berton, P.; Gurau, G.; Rogers, R. D. Hydrogels Based on Cellulose and Chitin: Fabrication, Properties, and Applications. *Green Chem.* **2016**, *18* (1), 53–75. <https://doi.org/10.1039/C5GC02396C>.
- (69) Lowe, A. B.; McCormick, C. L. Synthesis and Solution Properties of Zwitterionic Polymers. *Chem. Rev.* **2002**, *102* (11), 4177–4190. <https://doi.org/10.1021/cr020371t>.
- (70) Charaya, H.; Li, X.; Jen, N.; Chung, H.-J. Specific Ion Effects in Polyampholyte Hydrogels Dialyzed in Aqueous Electrolytic Solutions. *Langmuir* **2019**, *35* (5), 1526–1533. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b02281>.
- (71) Zheng, L.; Sundaram, H. S.; Wei, Z.; Li, C.; Yuan, Z. Applications of Zwitterionic Polymers. *React. Funct. Polym.* **2017**, *118*, 51–61. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2017.07.006>.
- (72) Kudaibergenov, S.; Jaeger, W.; Laschewsky, A. Polymeric Betaines: Synthesis, Characterization, and Application; **2006**; pp 157–224. [https://doi.org/10.1007/12\\_078](https://doi.org/10.1007/12_078).

- (73) Zhang, Y.; Liu, Y.; Ren, B.; Zhang, D.; Xie, S.; Chang, Y.; Yang, J.; Wu, J.; Xu, L.; Zheng, J. Fundamentals and Applications of Zwitterionic Antifouling Polymers. *J. Phys. D. Appl. Phys.* **2019**, *52* (40), 403001. <https://doi.org/10.1088/1361-6463/ab2cbc>.
- (74) Ibrahim, G. P. S.; Isloor, A. M.; Inamuddin; Asiri, A. M.; Farnood, R. Tuning the Surface Properties of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> by Zwitterionic Sulfobetaine: Application to Antifouling and Dye Removal Membrane. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **2020**, *17* (9), 4047–4060. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02730-z>.
- (75) Liu, Y.; Zhang, D.; Ren, B.; Gong, X.; Xu, L.; Feng, Z.-Q.; Chang, Y.; He, Y.; Zheng, J. Molecular Simulations and Understanding of Antifouling Zwitterionic Polymer Brushes. *J. Mater. Chem. B* **2020**, *8* (17), 3814–3828. <https://doi.org/10.1039/D0TB00520G>.
- (76) He, H.; Xiao, Z.; Zhou, Y.; Chen, A.; Xuan, X.; Li, Y.; Guo, X.; Zheng, J.; Xiao, J.; Wu, J. Zwitterionic Poly(Sulfobetaine Methacrylate) Hydrogels with Optimal Mechanical Properties for Improving Wound Healing in Vivo. *J. Mater. Chem. B* **2019**, *7* (10), 1697–1707. <https://doi.org/10.1039/C8TB02590H>.
- (77) Zhang, Z.; Chao, T.; Liu, L.; Cheng, G.; Ratner, B. D.; Jiang, S. Zwitterionic Hydrogels: An in Vivo Implantation Study. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2009**, *20* (13), 1845–1859. <https://doi.org/10.1163/156856208X386444>.
- (78) Liu, S.; Tang, J.; Ji, F.; Lin, W.; Chen, S. Recent Advances in Zwitterionic Hydrogels: Preparation, Property, and Biomedical Application. *Gels* **2022**, *8* (1), 46. <https://doi.org/10.3390/gels8010046>.
- (79) Dasgupta, A.; Mondal, J. H.; Das, D. Peptide Hydrogels. *RSC Adv.* **2013**, *3* (24), 9117. <https://doi.org/10.1039/c3ra40234g>.
- (80) Zhao, X.; Liang, J.; Shan, G.; Pan, P. High Strength of Hybrid Double-Network Hydrogels Imparted by Inter-Network Ionic Bonds. *J. Mater. Chem. B* **2019**, *7* (2), 324–333. <https://doi.org/10.1039/C8TB02803F>.
- (81) Rebers, L.; Reichsöllner, R.; Regett, S.; Tovar, G. E. M.; Borchers, K.; Baudis, S.; Southan, A. Differentiation of Physical and Chemical Cross-Linking in Gelatin Methacryloyl Hydrogels. *Sci. Rep.* **2021**, *11* (1), 3256. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82393-z>.
- (82) Mai, T.; Rakhmatullina, E.; Bleek, K.; Boye, S.; Yuan, J.; Völkel, A.; Gräwert, M.; Cheaib, Z.; Eick, S.; Günter, C.; Lederer, A.; Lussi, A.; Taubert, A. Poly(Ethylene Oxide)-b-Poly(3-Sulfopropyl Methacrylate) Block Copolymers for Calcium Phosphate Mineralization and Biofilm Inhibition. *Biomacromolecules* **2014**, *15* (11), 3901–3914. <https://doi.org/10.1021/bm500888q>.
- (83) Schweizer, S.; Taubert, A. Polymer-Controlled, Bio-Inspired Calcium Phosphate Mineralization from Aqueous Solution. *Macromol. Biosci.* **2007**, *7* (9–10), 1085–1099. <https://doi.org/10.1002/mabi.200600283>.
- (84) Mai, T.; Boye, S.; Yuan, J.; Völkel, A.; Gräwert, M.; Günter, C.; Lederer, A.; Taubert, A. Poly(Ethylene Oxide)-Based Block Copolymers with Very High Molecular Weights for Biomimetic Calcium Phosphate Mineralization. *RSC Adv.* **2015**, *5* (125), 103494–103505. <https://doi.org/10.1039/C5RA20035K>.
- (85) Mann, S.; Webb, J.; Williams, R. J. P. *Biomaterialization-Chemical and Biochemical Perspectives*, 1. Auflage.; VCH, **1989**.
- (86) Epple, M. *Biomaterialien Und Biomineralisation-Eine Einführung Für Naturwissenschaftler, Mediziner Und Ingenieure*; Auflage, 1., Ed.; Teubner Studienbücher Chemie, **2003**.
- (87) Kaim W. and Schwederski B. *Bioorganische Chemie-Zur Funktion Chemischer Elemente in Lebensprozessen*, 3. Auflage.; Teubner Studienbücher Chemie, **2004**.
- (88) Williams, D. F. On the Nature of Biomaterials. *Biomaterials* **2009**, *30* (30), 5897–5909. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.07.027>.
- (89) Mann, S. Molecular Recognition in Biomineralization. *Nature* **1988**, *332* (6160), 119–124. <https://doi.org/10.1038/332119a0>.
- (90) Lowenstam, H. A.; Weiner, S. *On Biomineralisation*, Inc. 3.; Oxford University Press, **1989**.

- (91) Mann, S. Biomineralization and Biomimetic Materials Chemistry. *J. Mater. Chem.* **1995**, 5 (7), 935. <https://doi.org/10.1039/jm9950500935>.
- (92) Taubert, A.; Mano, J. F.; Rodriguez-Cabello, J. C. *Biomaterials Surface Science*, 1. Auflage.; Wiley-VCH, **2013**.
- (93) Mann, S. *Biomineralization: Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry*, 1. Auflage.; Oxford University Press, **2001**.
- (94) Vert, M.; Doi, Y.; Hellwich, K.-H.; Hess, M.; Hodge, P.; Kubisa, P.; Rinaudo, M.; Schué, F. Terminology for Biorelated Polymers and Applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure Appl. Chem.* **2012**, 84 (2), 377–410. <https://doi.org/10.1351/PAC-REC-10-12-04>.
- (95) Uebe, R.; Schüler, D. 6 THE FORMATION OF IRON BIOMINERALS IN MAGNETOTACTIC BACTERIA. In *Metals, Microbes, and Minerals - The Biogeochemical Side of Life*; De Gruyter, **2021**; pp 159–184. <https://doi.org/10.1515/9783110589771-012>.
- (96) Faivre, D.; Schüler, D. Magnetotactic Bacteria and Magnetosomes. *Chem. Rev.* **2008**, 108 (11), 4875–4898. <https://doi.org/10.1021/cr078258w>.
- (97) Raja Somu, D.; Cracchiolo, T.; Longo, E.; Greving, I.; Merk, V. On Stars and Spikes: Resolving the Skeletal Morphology of Planktonic Acantharia Using Synchrotron X-Ray Nanotomography and Deep Learning Image Segmentation. *Acta Biomater.* **2023**, 159, 74–82. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.01.037>.
- (98) Raguin, E.; Rechav, K.; Brumfeld, V.; Shahar, R.; Weiner, S. Unique Three-Dimensional Structure of a Fish Pharyngeal Jaw Subjected to Unusually High Mechanical Loads. *J. Struct. Biol.* **2020**, 211 (2), 107530. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2020.107530>.
- (99) Raguin, E.; Rechav, K.; Shahar, R.; Weiner, S. Focused Ion Beam-SEM 3D Analysis of Mineralized Osteonal Bone: Lamellae and Cement Sheath Structures. *Acta Biomater.* **2021**, 121, 497–513. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.11.002>.
- (100) Lawson, A. C.; Czernuszka, J. T. Collagen-Calcium Phosphate Composites. *Proc. Inst. Mech. Eng. Part H J. Eng. Med.* **1998**, 212 (6), 413–425. <https://doi.org/10.1243/0954411981534187>.
- (101) Yokogawa, Y.; Reyes, J. P.; Mucalo, M. R.; Toriyama, M.; Kawamoto, Y.; Suzuki, T.; Nishizawa, K.; Nagata, F.; Kamayama, T. Growth of Calcium Phosphate on Phosphorylated Chitin Fibres. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1997**, 8, 407–412. <https://doi.org/https://doi.org/10.1023/A:1018549404092>.
- (102) Kim, S. B.; Kim, Y. J.; Yoon, T. L.; Park, S. A.; Cho, I. H.; Kim, E. J.; Kim, I. A.; Shin, J.-W. The Characteristics of a Hydroxyapatite–Chitosan–PMMA Bone Cement. *Biomaterials* **2004**, 25 (26), 5715–5723. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.01.022>.
- (103) Phakatkar, A. H.; Shirdar, M. R.; Qi, M.; Taheri, M. M.; Narayanan, S.; Foroozan, T.; Sharifi-Asl, S.; Huang, Z.; Agrawal, M.; Lu, Y.; Shahbazian-Yassar, R.; Shokuhfar, T. Novel PMMA Bone Cement Nanocomposites Containing Magnesium Phosphate Nanosheets and Hydroxyapatite Nanofibers. *Mater. Sci. Eng. C* **2020**, 109, 110497. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110497>.
- (104) Sahmani, S.; Khandan, A.; Esmaeili, S.; Saber-Samandari, S.; Ghadiri Nejad, M.; Aghdam, M. M. Calcium Phosphate-PLA Scaffolds Fabricated by Fused Deposition Modeling Technique for Bone Tissue Applications: Fabrication, Characterization and Simulation. *Ceram. Int.* **2020**, 46 (2), 2447–2456. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.09.238>.
- (105) Hasegawa, S.; Tamura, J.; Neo, M.; Goto, K.; Shikinami, Y.; Saito, M.; Kita, M.; Nakamura, T. In Vivo Evaluation of a Porous Hydroxyapatite/Poly-DL-Lactide Composite for Use as a Bone Substitute. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2005**, 75A (3), 567–579. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30460>.

- (106) Ignjatovic, N.; Suljovrujic, E.; Budinski-Simendic, J.; Krakovsky, I.; Uskokovic, D. Evaluation of Hot-Pressed Hydroxyapatite/Poly-L-Lactide Composite Biomaterial Characteristics. *J. Biomed. Mater. Res.* **2004**, *71B* (2), 284–294. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30093>.
- (107) Shuai, C.; Yang, W.; Feng, P.; Peng, S.; Pan, H. Accelerated Degradation of HAP/PLLA Bone Scaffold by PGA Blending Facilitates Bioactivity and Osteoconductivity. *Bioact. Mater.* **2021**, *6* (2), 490–502. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.09.001>.
- (108) Linhart, W.; Peters, F.; Lehmann, W.; Schwarz, K.; Schilling, A. F.; Amling, M.; Rueger, J. M.; Epple, M. Biologically and Chemically Optimized Composites of Carbonated Apatite and Polyglycolide as Bone Substitution Materials. *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *54* (2), 162–171. [https://doi.org/10.1002/1097-4636\(200102\)54:2<162::AID-JBM2>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/1097-4636(200102)54:2<162::AID-JBM2>3.0.CO;2-3).
- (109) Abbasi, N.; Hamlet, S.; Dau, V. T.; Nguyen, N.-T. Calcium Phosphate Stability on Melt Electrowritten PCL Scaffolds. *J. Sci. Adv. Mater. Devices* **2020**, *5* (1), 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2020.01.001>.
- (110) Causa, F.; Netti, P. A.; Ambrosio, L.; Ciapetti, G.; Baldini, N.; Pagani, S.; Martini, D.; Giunti, A. Poly-ε-Caprolactone/Hydroxyapatite Composites for Bone Regeneration: In Vitro Characterization and Human Osteoblast Response. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2006**, *76A* (1), 151–162. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30528>.
- (111) *Sicherheitsdatenblatt CAS: 7758-87-4 von Merck.*
- (112) Behrens, E.; Bäuerlein, E. *Handbook of Biomineralization: Biomimetic and Bioinspired Chemistry*; Wiley-VCH, **2009**.
- (113) Taton, T. A. Boning up on Biology. *Nature* **2001**, *412* (6846), 491–492. <https://doi.org/10.1038/35087687>.
- (114) Reznikov, N.; Shahar, R.; Weiner, S. Bone Hierarchical Structure in Three Dimensions. *Acta Biomater.* **2014**, *10* (9), 3815–3826. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.05.024>.
- (115) Reznikov, N.; Chase, H.; Brumfeld, V.; Shahar, R.; Weiner, S. The 3D Structure of the Collagen Fibril Network in Human Trabecular Bone: Relation to Trabecular Organization. *Bone* **2015**, *71*, 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2014.10.017>.
- (116) Eanes, E. D.; Termine, J. D.; Nylen, M. U. An Electron Microscopic Study of the Formation of Amorphous Calcium Phosphate and Its Transformation to Crystalline Apatite. *Calcif. Tissue Res.* **1973**, *12* (1), 143–158. <https://doi.org/10.1007/BF02013730>.
- (117) Terpstra, P. On the Crystallography of Brushite. *Zeitschrift für Krist. - Cryst. Mater.* **1937**, *97* (1–6), 229–233. <https://doi.org/10.1524/zkri.1937.97.1.229>.
- (118) Walsh, D.; Kingston, J. L.; Heywood, B. R.; Mann, S. Influence of Monosaccharides and Related Molecules on the Morphology of Hydroxyapatite. *J. Cryst. Growth* **1993**, *133* (1–2), 1–12. [https://doi.org/10.1016/0022-0248\(93\)90097-G](https://doi.org/10.1016/0022-0248(93)90097-G).
- (119) Kandori, K.; Yasukawa, A.; Ishikawa, T. Preparation and Characterization of Spherical Calcium Hydroxyapatite. *Chem. Mater.* **1995**, *7* (1), 26–32. <https://doi.org/10.1021/cm00049a007>.
- (120) Iijima, M.; Moriwaki, Y.; Takagi, T.; Moradian-Oldak, J. Effects of Bovine Amelogenins on the Crystal Morphology of Octacalcium Phosphate in a Model System of Tooth Enamel Formation. *J. Cryst. Growth* **2001**, *222* (3), 615–626. [https://doi.org/10.1016/S0022-0248\(00\)00984-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0248(00)00984-2).
- (121) Bleek, K.; Taubert, A. New Developments in Polymer-Controlled, Bioinspired Calcium Phosphate Mineralization from Aqueous Solution. *Acta Biomater.* **2013**, *9* (5), 6283–6321. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.12.027>.
- (122) Xu, A.-W.; Ma, Y.; Cölfen, H. Biomimetic Mineralization. *J. Mater. Chem.* **2007**, *17* (5), 415–449. <https://doi.org/10.1039/B611918M>.

- (123) Cölfen, H.; Mann, S. Higher-Order Organization by Mesoscale Self-Assembly and Transformation of Hybrid Nanostructures. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2003**, *42* (21), 2350–2365. <https://doi.org/10.1002/anie.200200562>.
- (124) Zou, Z.; Habraken, W. J. E. M.; Matveeva, G.; Jensen, A. C. S.; Bertinetti, L.; Hood, M. A.; Sun, C.; Gilbert, P. U. P. A.; Polishchuk, I.; Pokroy, B.; Mahamid, J.; Politi, Y.; Weiner, S.; Werner, P.; Bette, S.; Dinnebier, R.; Kolb, U.; Zolotoyabko, E.; Fratzl, P. A Hydrated Crystalline Calcium Carbonate Phase: Calcium Carbonate Hemihydrate. *Science*, **2019**, *363* (6425), 396–400. <https://doi.org/10.1126/science.aav0210>.
- (125) Myszka, B.; Schüßler, M.; Hurle, K.; Demmert, B.; Detsch, R.; Boccaccini, A. R.; Wolf, S. E. Phase-Specific Bioactivity and Altered Ostwald Ripening Pathways of Calcium Carbonate Polymorphs in Simulated Body Fluid. *RSC Adv.* **2019**, *9* (32), 18232–18244. <https://doi.org/10.1039/C9RA01473J>.
- (126) Meldrum, F. C.; Cölfen, H. Controlling Mineral Morphologies and Structures in Biological and Synthetic Systems. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (11), 4332–4432. <https://doi.org/10.1021/cr8002856>.
- (127) Nassif, N.; Pinna, N.; Gehrke, N.; Antonietti, M.; Jäger, C.; Cölfen, H. Amorphous Layer around Aragonite Platelets in Nacre. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2005**, *102* (36), 12653–12655. <https://doi.org/10.1073/pnas.0502577102>.
- (128) Cölfen, H.; Antonietti, M. *Mesocrystals and Nonclassical Crystallization*; Wiley, **2008**. <https://doi.org/10.1002/9780470994603>.
- (129) LaMer, V. K.; Dinegar, R. H. Theory, Production and Mechanism of Formation of Monodispersed Hydrosols. *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72* (11), 4847–4854. <https://doi.org/10.1021/ja01167a001>.
- (130) Mer, V. K. La. Nucleation in Phase Transitions. *Ind. Eng. Chem.* **1952**, *44* (6), 1270–1277. <https://doi.org/10.1021/ie50510a027>.
- (131) Niederberger, M.; Cölfen, H. Oriented Attachment and Mesocrystals: Non-Classical Crystallization Mechanisms Based on Nanoparticle Assembly. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8* (28), 3271–3287. <https://doi.org/10.1039/B604589H>.
- (132) Kim, Y.-Y.; Douglas, E. P.; Gower, L. B. Patterning Inorganic (CaCO<sub>3</sub>) Thin Films via a Polymer-Induced Liquid-Precursor Process. *Langmuir* **2007**, *23* (9), 4862–4870. <https://doi.org/10.1021/la061975l>.
- (133) Gower, L. B. Biomimetic Model Systems for Investigating the Amorphous Precursor Pathway and Its Role in Biomineralization. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (11), 4551–4627. <https://doi.org/10.1021/cr800443h>.
- (134) Jee, S.-S.; Thula, T. T.; Gower, L. B. Development of Bone-like Composites via the Polymer-Induced Liquid-Precursor (PILP) Process. Part 1: Influence of Polymer Molecular Weight. *Acta Biomater.* **2010**, *6* (9), 3676–3686. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.03.036>.
- (135) Thula, T. T.; Svedlund, F.; Rodriguez, D. E.; Podschun, J.; Pendi, L.; Gower, L. B. Mimicking the Nanostructure of Bone: Comparison of Polymeric Process-Directing Agents. *Polymers (Basel)*. **2010**, *3* (1), 10–35. <https://doi.org/10.3390/polym3010010>.
- (136) Tieke, B. *Makromolekulare Chemie-Eine Einführung*, 2. Auflage.; Wiley.VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2005**.
- (137) Elias, H.-G. *Makromoleküle, Band 1 Grundlagen Struktur Synthese Eigenschaften*, 5. Auflage.; Basel, H. & W. V., Ed.; **1990**.
- (138) Lechner, M. D.; Gehrke, K.; Nordmeier, E. H. *Makromolekulare Chemie- Ein Lehrbuch Für Chemiker, Physiker, Materialwissenschaftler Und Verfahrenstechniker*, 2. Auflage.; Birkhäuser Verlag, **1996**.
- (139) Odian, G. *Principles of Polymerization*, 4. Auflage.; Wiley-Interscience, **2004**.
- (140) Jenkins, A. D.; Kratochvíl, P.; Stepto, R. F. T.; Suter, U. W. Glossary of Basic Terms in Polymer Science (IUPAC Recommendations 1996). *Pure Appl. Chem.* **1996**, *68* (12), 2287–2311. <https://doi.org/10.1351/pac199668122287>.

- (141) <http://de.pons.com>.
- (142) Flory, P. J. *Principles of Polymer Chemistry*; Cornell University Press, Ithaca, NY, **1953**.
- (143) Furutani, M.; Ide, T.; Kinoshita, S.; Horiguchi, R.; Mori, I.; Sakai, K.; Arimitsu, K. Initiator-Free Photopolymerization of Common Acrylate Monomers with 254 Nm Light. *Polym. Int.* **2019**, *68* (1), 79–82. <https://doi.org/10.1002/pi.5696>.
- (144) Cramer, N. B.; Scott, J. P.; Bowman, C. N. Photopolymerizations of Thiol–Ene Polymers without Photoinitiators. *Macromolecules* **2002**, *35* (14), 5361–5365. <https://doi.org/10.1021/ma0200672>.
- (145) Jagtap, A.; More, A. A Review on Self-Initiated and Photoinitiator-Free System for Photopolymerization. *Polym. Bull.* **2022**, *79* (10), 8057–8091. <https://doi.org/10.1007/s00289-021-03887-4>.
- (146) Wilems, T. S.; Lu, X.; Kurosu, Y. E.; Khan, Z.; Lim, H. J.; Smith Callahan, L. A. Effects of Free Radical Initiators on Polyethylene Glycol Dimethacrylate Hydrogel Properties and Biocompatibility. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2017**, *105* (11), 3059–3068. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36160>.
- (147) Ivoclar Vivadent AG, Report No. 19 Research and Development of Ivoclar Vivadent AG, Ivocerin® – a Milestone in Composite Technology; **2013**.
- (148) Misra, G. S.; Bajpai, U. D. N. Redox Polymerization. *Prog. Polym. Sci.* **1982**, *8* (1–2), 61–131. [https://doi.org/10.1016/0079-6700\(82\)90008-9](https://doi.org/10.1016/0079-6700(82)90008-9).
- (149) Sarac, A. S. Redox Polymerization. *Prog. Polym. Sci.* **1999**, *24* (8), 1149–1204. [https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(99\)00026-X](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(99)00026-X).
- (150) Feng, X. De; Guo, X. Q.; Kun, Y. Q. Study of the Initiation Mechanism of the Vinyl Polymerization with the System Persulfate/N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine. *Makromol. Chem.* **1988**, *189* (1), 77–83. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/macp.1988.021890108>.
- (151) Strachota, B.; Matějka, L.; Zhigunov, A.; Konefał, R.; Spěváček, J.; Dybal, J.; Puffr, R. Poly( N - Isopropylacrylamide)–Clay Based Hydrogels Controlled by the Initiating Conditions: Evolution of Structure and Gel Formation. *Soft Matter* **2015**, *11* (48), 9291–9306. <https://doi.org/10.1039/C5SM01996F>.
- (152) Hess, M.; Jones, R. G.; Kahovec, J.; Kitayama, T.; Kratochvíl, P.; Kubisa, P.; Mormann, W.; Stepto, R. F. T.; Tabak, D.; Vohlřdal, J.; Wilks, E. S. Terminology of Polymers Containing Ionizable or Ionic Groups and of Polymers Containing Ions (IUPAC Recommendations 2006). *Pure Appl. Chem.* **2006**, *78* (11), 2067–2074. <https://doi.org/10.1351/pac200678112067>.
- (153) Laschewsky, A. Structures and Synthesis of Zwitterionic Polymers. *Polymers (Basel)*. **2014**, *6* (5), 1544–1601. <https://doi.org/10.3390/polym6051544>.
- (154) Laschewsky, A.; Rosenhahn, A. Molecular Design of Zwitterionic Polymer Interfaces: Searching for the Difference. *Langmuir* **2019**, *35* (5), 1056–1071. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b01789>.
- (155) Hart, R.; Timmerman, D. New Polyampholytes: The Polysulfobetaines. *J. Polym. Sci.* **1958**, *28* (118), 638–640. <https://doi.org/10.1002/pol.1958.1202811820>.
- (156) DIN EN ISO 6721-1 (2019-09) Kunststoffe - Bestimmung Dynamisch-Mechanischer Eigenschaften - Teil 1: Allgemeine Grundlagen.
- (157) Menard, K. P.; Menard, N. R. *Dynamic Mechanical Analysis*; CRC Press, **1999**. <https://doi.org/10.1201/9780429190308>.
- (158) Lehnen, A.-C. Bachelorarbeit - Einfluss von Syntheseparametern Und Zellmedien Auf Die Eigenschaften von Hydrogelen, Universität Potsdam, **2018**.
- (159) *Dynamische Differenz-Kalorimetrie (DSC)* <https://analyzing-testing.netzsch.com/de/auftragsmessungen/methoden/dynamische-differenz-kalorimetrie-dsc>. Letzter Zugriff: 13.03.2023
- (160) ISO 22412:2008 Particle Size Analysis - Dynamic Light Scattering (DLS).

- (161) Berne, B. J.; Pecora, R. *Dynamic Light Scattering: With Applications to Chemistry, Biology, and Physics*; DOVER PUBLICATIONS, INC. Mineola. New York, **2000**.
- (162) Asai, H.; Nishi, K.; Hiroi, T.; Fujii, K.; Sakai, T.; Shibayama, M. Gelation Process of Tetra-PEG Ion-Gel Investigated by Time-Resolved Dynamic Light Scattering. *Polymer (Guildf)*. **2013**, *54* (3), 1160–1166. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2012.12.053>.
- (163) Baker, B. B.; Copson, E. T. *The Mathematical Theory of Huygens' Principle*, Third Edit.; AMS Chelsea Publishing, **1987**.
- (164) Brookhaven Instrument Corporation. <https://www.news-medical.net/whitepaper/20210525/Using-Dynamic-Light-Scattering-%28DLS%29-to-Analyze-Virus-Particles.aspx>. Letzter Zugriff: 13.03.2023
- (165) Provencher, S. W. A Constrained Regularization Method for Inverting Data Represented by Linear Algebraic or Integral Equations. *Comput. Phys. Commun.* **1982**, *27* (3), 213–227. [https://doi.org/10.1016/0010-4655\(82\)90173-4](https://doi.org/10.1016/0010-4655(82)90173-4).
- (166) Joosten, J. G. H.; Geladé, E. T. F.; Pusey, P. N. Dynamic Light Scattering by Nonergodic Media: Brownian Particles Trapped in Polyacrylamide Gels. *Phys. Rev. A* **1990**, *42* (4), 2161–2175. <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.42.2161>.
- (167) Joosten, J. G. H.; McCarthy, J. L.; Pusey, P. N. Dynamic and Static Light Scattering by Aqueous Polyacrylamide Gels. *Macromolecules* **1991**, *24* (25), 6690–6699. <https://doi.org/10.1021/ma00025a021>.
- (168) Comparelli, R.; Fanizza, E.; Striccoli, M.; Curri, M. L. *Inorganic Micro- and Nanomaterials*; Dibenedetto, A., Aresta, M., Eds.; DE GRUYTER, **2013**. <https://doi.org/10.1515/9783110306873>.
- (169) Šlouf, M.; Vacková, T.; Lednický, F.; Wandrol, P. 6. Polymer Surface Morphology: Characterization by Electron Microscopies. In *Polymer Surface Characterization*; DE GRUYTER, **2014**; pp 169–206. <https://doi.org/10.1515/9783110288117.169>.
- (170) Wang, Z. L.; Lee, J. L. Electron Microscopy Techniques for Imaging and Analysis of Nanoparticles. In *Developments in Surface Contamination and Cleaning*; Elsevier, **2008**; pp 395–443. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-29960-2.00009-5>.
- (171) Szeifert, K.-H. *Charakteristische Röntgenstrahlung*. <https://www.mta-r.de/blog/charakteristische-roentgenstrahlung/>. Letzter Zugriff: 13.03.2023
- (172) Gharibkandi, N. A.; Gierałowska, J.; Wawrowicz, K.; Bilewicz, A. Nanostructures as Radionuclide Carriers in Auger Electron Therapy. *Materials (Basel)*. **2022**, *15* (3), 1143. <https://doi.org/10.3390/ma15031143>.
- (173) Hell, S. W. Microscopy and Its Focal Switch. *Nat. Methods* **2009**, *6* (1), 24–32. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1291>.
- (174) Friebolin, H. *Ein- Und Zweidimensionale NMR-Spektroskopie Eine Einführung*, 5. Auflage.; Wiley-VCH, **2013**.
- (175) Saalwächter, K.; Spiess, H. W. Solid-State NMR of Polymers. In *Polymer Science: A Comprehensive Reference*; Elsevier, **2012**; pp 185–219. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53349-4.00025-X>.
- (176) Saalwächter, K. Multiple-Quantum NMR Studies of Anisotropic Polymer Chain Dynamics. In *Modern Magnetic Resonance*; Springer International Publishing: Cham, **2017**; pp 1–28. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-28275-6\\_59-2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-28275-6_59-2).
- (177) Bechmann, W.; Schmidt, J. *Struktur-Und Stoffanalytik Mit Spektroskopischen Methoden*, 1. Auflage.; Teubner Studienbücher Chemie, **2000**.
- (178) Atkins, P. W. *Physikalische Chemie*, 3. Auflage.; Wiley-VCH, **2001**.
- (179) Saalwächter, K. MICROSTRUCTURE AND MOLECULAR DYNAMICS OF ELASTOMERS AS STUDIED BY ADVANCED LOW-RESOLUTION NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE METHODS. *Rubber Chem. Technol.* **2012**, *85* (3), 350–386. <https://doi.org/10.5254/rct.12.87991>.

- (180) Saalwächter, K.; Gottlieb, M.; Liu, Oppermann, W. Gelation as Studied by Proton Multiple-Quantum NMR. *Macromolecules* **2007**, *40* (5), 1555–1561. <https://doi.org/10.1021/ma062776b>.
- (181) Valentín JL, López D, Hernández R, Mijangos C, Saalwächter K. Structure of Poly(vinyl alcohol) Cryo-Hydrogels as Studied by Proton Low-Field NMR Spectroscopy. *Macromolecules*. **2009** Jan 13;42(1):263-272. doi: 10.1021/ma802172g. Epub 2008 Dec 12. PMID: 19802359; PMCID: PMC2756085.
- (182) Blackledge, M. Recent Progress in the Study of Biomolecular Structure and Dynamics in Solution from Residual Dipolar Couplings. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2005**, *46* (1), 23–61. <https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2004.11.002>.
- (183) Kramer, F.; Deshmukh, M. V.; Kessler, H.; Glaser, S. J. Residual Dipolar Coupling Constants: An Elementary Derivation of Key Equations. *Concepts Magn. Reson.* **2004**, *21A* (1), 10–21. <https://doi.org/10.1002/cmr.a.20003>.
- (184) SAALWÄCHTER, K. Proton Multiple-Quantum NMR for the Study of Chain Dynamics and Structural Constraints in Polymeric Soft Materials. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2007**, *51* (1), 1–35. <https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2007.01.001>.
- (185) Jakisch, L.; Garaleh, M.; Schäfer, M.; Mordvinkin, A.; Saalwächter, K.; Böhme, F. Synthesis and Structural NMR Characterization of Novel PPG/PCL Conetworks Based upon Heterocomplementary Coupling Reactions. *Macromol. Chem. Phys.* **2018**, *219* (3), 1700327. <https://doi.org/10.1002/macp.201700327>.
- (186) Lange, F.; Schwenke, K.; Kurakazu, M.; Akagi, Y.; Chung, U.; Lang, M.; Sommer, J.-U.; Sakai, T.; Saalwächter, K. Connectivity and Structural Defects in Model Hydrogels: A Combined Proton NMR and Monte Carlo Simulation Study. *Macromolecules* **2011**, *44* (24), 9666–9674. <https://doi.org/10.1021/ma201847v>.
- (187) Chassé, W.; Valentín, J. L.; Genesky, G. D.; Cohen, C.; Saalwächter, K. Precise Dipolar Coupling Constant Distribution Analysis in Proton Multiple-Quantum NMR of Elastomers. *J. Chem. Phys.* **2011**, *134* (4), 044907. <https://doi.org/10.1063/1.3534856>.
- (188) Sommer, J.-U.; Chassé, W.; Valentín, J. L.; Saalwächter, K. Effect of Excluded Volume on Segmental Orientation Correlations in Polymer Chains. *Phys. Rev. E* **2008**, *78* (5), 051803. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.78.051803>.
- (189) Naumova, A.; Agudelo, D. C.; Villar, M. A.; Vega, D. A.; Valentin, J. L.; Saalwächter, K. Microscopic State of Polymer Network Chains upon Swelling and Deformation. *Macromolecules* **2019**, *52* (13), 5042–5053. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.9b00971>.
- (190) Schnablegger, H.; Singh, Y. *The SAXS Guide - Getting Acquainted with the Principles*, 4th Editio.; Anton Paar GmbH, **2017**.
- (191) Bauch, J.; Rosenkranz, R. SAXS - Röntgenkleinwinkelstreuung. In *Physikalische Werkstoffdiagnostik*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2017**; pp 54–55. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-53952-1\\_27](https://doi.org/10.1007/978-3-662-53952-1_27).
- (192) Lombardo, D.; Calandra, P.; Kiselev, M. A. Structural Characterization of Biomaterials by Means of Small Angle X-Rays and Neutron Scattering (SAXS and SANS), and Light Scattering Experiments. *Molecules* **2020**, *25* (23), 5624. <https://doi.org/10.3390/molecules25235624>.
- (193) Debye, P.; Bueche, A. M. Scattering by an Inhomogeneous Solid. *J. Appl. Phys.* **1949**, *20* (6), 518–525. <https://doi.org/10.1063/1.1698419>.
- (194) Debye, P.; Anderson, H. R.; Brumberger, H. Scattering by an Inhomogeneous Solid. II. The Correlation Function and Its Application. *J. Appl. Phys.* **1957**, *28* (6), 679–683. <https://doi.org/10.1063/1.1722830>.
- (195) Martynov, G. A. The Ornstein–Zernike Equation and Critical Phenomena in Fluids. *J. Chem. Phys.* **2008**, *129* (24), 244509. <https://doi.org/10.1063/1.2994716>.

- (196) Hecht, A. M.; Duplessix, R.; Geissler, E. Structural Inhomogeneities in the Range 2.5-2500 .ANG. in Polyacrylamide Gels. *Macromolecules* **1985**, *18* (11), 2167–2173. <https://doi.org/10.1021/ma00153a018>.
- (197) Horkay, F.; Hecht, A. M.; Mallam, S.; Geissler, E.; Rennie, A. R. Macroscopic and Microscopic Thermodynamic Observations in Swollen Poly(Vinyl Acetate) Networks. *Macromolecules* **1991**, *24* (10), 2896–2902. <https://doi.org/10.1021/ma00010a040>.
- (198) Shibayama, M.; Tanaka, T.; Han, C. C. Small Angle Neutron Scattering Study on Poly(N-isopropyl Acrylamide) Gels near Their Volume-phase Transition Temperature. *J. Chem. Phys.* **1992**, *97* (9), 6829–6841. <https://doi.org/10.1063/1.463636>.
- (199) Shibayama, M.; Kurokawa, H.; Nomura, S.; Muthukumar, M.; Stein, R. S.; Roy, S. Small-Angle Neutron Scattering from Poly(Vinyl Alcohol)-Borate Gels. *Polymer (Guildf)*. **1992**, *33* (14), 2883–2890. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(92\)90072-5](https://doi.org/10.1016/0032-3861(92)90072-5).
- (200) Bauch, J.; Rosenkranz, R. EDX - Energiedispersive Röntgenspektroskopie. In *Physikalische Werkstoffdiagnostik*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2017**; pp 60–61. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-53952-1\\_30](https://doi.org/10.1007/978-3-662-53952-1_30).
- (201) Kiontke, L. Biomaterialien. In *Medizintechnik*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2002**; pp 671–683. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-12453-6\\_48](https://doi.org/10.1007/978-3-662-12453-6_48).
- (202) White, E. H.; Steinmetz, M. G.; Miano, J. D.; Wildes, P. D.; Morland, R. Chemi- and Bioluminescence of Firefly Luciferin. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102* (9), 3199–3208. <https://doi.org/10.1021/ja00529a051>.
- (203) Zemmouche, M.; García-Iriepa, C.; Navizet, I. Light Emission Colour Modulation Study of Oxyluciferin Synthetic Analogues via QM and QM/MM Approaches. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2020**, *22* (1), 82–91. <https://doi.org/10.1039/C9CP04687A>.
- (204) Mosmann, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65* (1–2), 55–63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).
- (205) Stockert, J. C.; Horobin, R. W.; Colombo, L. L.; Blázquez-Castro, A. Tetrazolium Salts and Formazan Products in Cell Biology: Viability Assessment, Fluorescence Imaging, and Labeling Perspectives. *Acta Histochem.* **2018**, *120* (3), 159–167. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.02.005>.
- (206) Chamchoy, K.; Pakotiprapha, D.; Pumirat, P.; Leartsakulpanich, U.; Boonyuen, U. Application of WST-8 Based Colorimetric NAD(P)H Detection for Quantitative Dehydrogenase Assays. *BMC Biochem.* **2019**, *20* (1), 4. <https://doi.org/10.1186/s12858-019-0108-1>.
- (207) Berridge, M. V.; Tan, A. S. Characterization of the Cellular Reduction of 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-Yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT): Subcellular Localization, Substrate Dependence, and Involvement of Mitochondrial Electron Transport in MTT Reduction. *Arch. Biochem. Biophys.* **1993**, *303* (2), 474–482. <https://doi.org/10.1006/abbi.1993.1311>.
- (208) Berridge, M. V.; Tan, A. S.; Hilton, C. J. Cyclic Adenosine Monophosphate Promotes Cell Survival and Retards Apoptosis in a Factor-Dependent Bone Marrow-Derived Cell Line. *Exp. Hematol.* **1993**, *21* (2), 269–276.
- (209) Smith, G. P. Filamentous Fusion Phage: Novel Expression Vectors That Display Cloned Antigens on the Virion Surface. *Science (80-. )*. **1985**, *228* (4705), 1315–1317. <https://doi.org/10.1126/science.4001944>.
- (210) Lemloh, M.-L.; Altintoprak, K.; Wege, C.; Weiss, I.; Rothenstein, D. Biogenic and Synthetic Peptides with Oppositely Charged Amino Acids as Binding Sites for Mineralization. *Materials (Basel)*. **2017**, *10* (2), 119. <https://doi.org/10.3390/ma10020119>.
- (211) Ihlenburg, R. B. J. Masterarbeit - Polymergele Für Die Biomineralisation, Universität Potsdam, **2015**.

- (212) VADNERE, M.; AMIDON, G.; LINDENBAUM, S.; HASLAM, J. Thermodynamic Studies on the Gel-Sol Transition of Some Pluronic Polyols. *Int. J. Pharm.* **1984**, *22* (2–3), 207–218. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(84\)90022-X](https://doi.org/10.1016/0378-5173(84)90022-X).
- (213) Gilbert, J. C.; Richardson, J. L.; Davies, M. C.; Palin, K. J.; Hadgraft, J. The Effect of Solutes and Polymers on the Gelation Properties of Pluronic F-127 Solutions for Controlled Drug Delivery. *J. Control. Release* **1987**, *5* (2), 113–118. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(87\)90002-2](https://doi.org/10.1016/0168-3659(87)90002-2).
- (214) Hemp, S. T.; Zhang, M.; Allen, M. H.; Cheng, S.; Moore, R. B.; Long, T. E. Comparing Ammonium and Phosphonium Polymerized Ionic Liquids: Thermal Analysis, Conductivity, and Morphology. *Macromol. Chem. Phys.* **2013**, *214* (18), 2099–2107. <https://doi.org/10.1002/macp.201300322>.
- (215) Shkilnyy, A.; Gräf, R.; Hiebl, B.; Neffe, A. T.; Friedrich, A.; Hartmann, J.; Taubert, A. Unprecedented, Low Cytotoxicity of Spongelike Calcium Phosphate/Poly(Ethylene Imine) Hydrogel Composites. *Macromol. Biosci.* **2009**, *9* (2), 179–186. <https://doi.org/10.1002/mabi.200800266>.
- (216) Shkilnyy, A.; Friedrich, A.; Tiersch, B.; Schöne, S.; Fechner, M.; Koetz, J.; Schläpfer, C.-W.; Taubert, A. Poly(Ethylene Imine)-Controlled Calcium Phosphate Mineralization. *Langmuir* **2008**, *24* (5), 2102–2109. <https://doi.org/10.1021/la702523p>.
- (217) Bin Anooz, S.; Bertram, R.; Klimm, D. The Solid State Phase Transformation of Potassium Sulfate. *Solid State Commun.* **2007**, *141* (9), 497–501. <https://doi.org/10.1016/j.ssc.2006.12.008>.
- (218) Ruyter, I. E.; Svendsen, S. A. Remaining Methacrylate Groups in Composite Restorative Materials. *Acta Odontol. Scand.* **1978**, *36* (2), 75–82. <https://doi.org/10.3109/00016357809027569>.
- (219) Kang, B.; Tang, H.; Zhao, Z.; Song, S. Hofmeister Series: Insights of Ion Specificity from Amphiphilic Assembly and Interface Property. *ACS Omega* **2020**, *5* (12), 6229–6239. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00237>.
- (220) ZHANG, Y.; CREMER, P. Interactions between Macromolecules and Ions: The Hofmeister Series. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2006**, *10* (6), 658–663. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.09.020>.
- (221) Hofmeister, F. Zur Lehre von Der Wirkung Der Salze. *Arch. für Exp. Pathol. und Pharmakologie* **1888**, *24* (4–5), 247–260. <https://doi.org/10.1007/BF01918191>.
- (222) Kunz, W. *Specific Ion Effects*; World Scientific, **2010**.
- (223) Chu, B.; Hsiao, B. S. Small-Angle X-Ray Scattering of Polymers. *Chem. Rev.* **2001**, *101* (6), 1727–1762. <https://doi.org/10.1021/cr9900376>.
- (224) Ihlenburg, R. B. J.; Mai, T.; Thünemann, A. F.; Baerenwald, R.; Saalwächter, K.; Koetz, J.; Taubert, A. Sulfobetaine Hydrogels with a Complex Multilength-Scale Hierarchical Structure. *J. Phys. Chem. B* **2021**, *125* (13), 3398–3408. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c10601>.
- (225) Wu, B.; Chassé, W.; Peters, R.; Brooijmans, T.; Dias, A. A.; Heise, A.; Duxbury, C. J.; Kentgens, A. P. M.; Brougham, D. F.; Litvinov, V. M. Network Structure in Acrylate Systems: Effect of Junction Topology on Cross-Link Density and Macroscopic Gel Properties. *Macromolecules* **2016**, *49* (17), 6531–6540. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.6b01070>.
- (226) Gerhardt, S. Bachelorarbeit - Sulfobetain-Blockpolymere Für Die Fällung von Calciumphosphat, Universität Potsdam, **2018**.
- (227) Kokubo, T.; Ito, S.; Huang, Z. T.; Hayashi, T.; Sakka, S.; Kitsugi, T.; Yamamuro, T. Ca, P-Rich Layer Formed on High-Strength Bioactive Glass-Ceramic A-W. *J. Biomed. Mater. Res.* **1990**, *24* (3), 331–343. <https://doi.org/10.1002/jbm.820240306>.
- (228) Kokubo, T.; Kushitani, H.; Sakka, S.; Kitsugi, T.; Yamamuro, T. *Protocol for Preparing Simulated Body Fluid (SBF)*. <http://www.life.kyutech.ac.jp/~tmiya/SBF-e.html>. Letzter Zugriff: 13.03.2023

- (229) Kokubo, T.; Kushitani, H.; Sakka, S.; Kitsugi, T.; Yamamuro, T. Solutions Able to Reproduce in Vivo Surface-Structure Changes in Bioactive Glass-Ceramic A-W3. *J. Biomed. Mater. Res.* **1990**, *24* (6), 721–734. <https://doi.org/10.1002/jbm.820240607>.
- (230) Hirsch, A.; Azuri, I.; Addadi, L.; Weiner, S.; Yang, K.; Curtarolo, S.; Kronik, L. Infrared Absorption Spectrum of Brushite from First Principles. *Chem. Mater.* **2014**, *26* (9), 2934–2942. <https://doi.org/10.1021/cm500650t>.
- (231) Hentrich, D.; Tauer, K.; Espanol, M.; Ginebra, M.-P.; Taubert, A. EDTA and NTA Effectively Tune the Mineralization of Calcium Phosphate from Bulk Aqueous Solution. *Biomimetics* **2017**, *2* (4), 24. <https://doi.org/10.3390/biomimetics2040024>.
- (232) Petrov, I.; Šoptrajanov, B.; Fuson, N.; Lawson, J. R. Infra-Red Investigation of Dicalcium Phosphates. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Spectrosc.* **1967**, *23* (10), 2637–2646. [https://doi.org/10.1016/0584-8539\(67\)80155-7](https://doi.org/10.1016/0584-8539(67)80155-7).
- (233) Tsuda, H.; Arends, J. Raman Spectra of Human Dental Calculus. *J. Dent. Res.* **1993**, *72* (12), 1609–1613. <https://doi.org/10.1177/00220345930720121401>.
- (234) Taubert, A.; Balischewski, C.; Hentrich, D.; Elschner, T.; Eidner, S.; Günter, C.; Behrens, K.; Heinze, T. Water-Soluble Cellulose Derivatives Are Sustainable Additives for Biomimetic Calcium Phosphate Mineralization. *Inorganics* **2016**, *4* (4), 33. <https://doi.org/10.3390/inorganics4040033>.
- (235) Li, Z.; Su, Y.; Xie, B.; Wang, H.; Wen, T.; He, C.; Shen, H.; Wu, D.; Wang, D. A Tough Hydrogel–Hydroxyapatite Bone-like Composite Fabricated in Situ by the Electrophoresis Approach. *J. Mater. Chem. B* **2013**, *1* (12), 1755. <https://doi.org/10.1039/c3tb00246b>.
- (236) Porto, S. P. S.; Giordmaine, J. A.; Damen, T. C. Depolarization of Raman Scattering in Calcite. *Phys. Rev.* **1966**, *147* (2), 608–611. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.147.608>.
- (237) Frech, R.; Wang, E. C.; Bates, J. B. The i.r. and Raman Spectra of CaCO<sub>3</sub> (Aragonite). *Spectrochim. Acta Part A Mol. Spectrosc.* **1980**, *36* (10), 915–919. [https://doi.org/10.1016/0584-8539\(80\)80044-4](https://doi.org/10.1016/0584-8539(80)80044-4).
- (238) Miller, F. A.; Wilkins, C. H. Infrared Spectra and Characteristic Frequencies of Inorganic Ions. *Anal. Chem.* **1952**, *24* (8), 1253–1294. <https://doi.org/10.1021/ac60068a007>.
- (239) Rietscher, M. S. Einfluss von Kalziumphosphat-Haltigen Hydrogelen Auf Die Differenzierung von Humanen Chondrozyten Und Osteosarkomzellen, BTU Cottbus-Senftenberg, **2020**.
- (240) Anderson, J. M.; Rodriguez, A.; Chang, D. T. Foreign Body Reaction to Biomaterials. *Semin. Immunol.* **2008**, *20* (2), 86–100. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2007.11.004>.
- (241) Ratner, B. D.; Bryant, S. J. Biomaterials: Where We Have Been and Where We Are Going. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2004**, *6* (1), 41–75. <https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140027>.
- (242) Taylor, W. R. The Classification of Amino Acid Conservation. *J. Theor. Biol.* **1986**, *119* (2), 205–218. [https://doi.org/10.1016/S0022-5193\(86\)80075-3](https://doi.org/10.1016/S0022-5193(86)80075-3).
- (243) Hess, G. T.; Cragolini, J. J.; Popp, M. W.; Allen, M. A.; Dougan, S. K.; Spooner, E.; Ploegh, H. L.; Belcher, A. M.; Guimaraes, C. P. M13 Bacteriophage Display Framework That Allows Sortase-Mediated Modification of Surface-Accessible Phage Proteins. *Bioconjug. Chem.* **2012**, *23* (7), 1478–1487. <https://doi.org/10.1021/bc300130z>.
- (244) Ihlenburg, R. B. J.; Petracek, D.; Schrank, P.; Davari, M. D.; Taubert, A.; Rothenstein, D. Identification of the First Sulfobetaine Hydrogel-Binding Peptides via Phage Display Assay. *Macromol. Rapid Commun.* **2023**, 2200896. <https://doi.org/10.1002/marc.202200896>.
- (245) Rebers, L.; Granse, T.; Tovar, G.; Southan, A.; Borchers, K. Physical Interactions Strengthen Chemical Gelatin Methacryloyl Gels. *Gels* **2019**, *5* (1), 4. <https://doi.org/10.3390/gels5010004>.

- (246) Claaßen, C.; Claaßen, M. H.; Truffault, V.; Sewald, L.; Tovar, G. E. M.; Borchers, K.; Southan, A. Quantification of Substitution of Gelatin Methacryloyl: Best Practice and Current Pitfalls. *Biomacromolecules* **2018**, *19* (1), 42–52. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b01221>.
- (247) Prystupa, D. A.; Donald, A. M. Infrared Study of Gelatin Conformations in the Gel and Sol States. *Polym. Gels Networks* **1996**, *4* (2), 87–110. [https://doi.org/10.1016/0966-7822\(96\)00003-2](https://doi.org/10.1016/0966-7822(96)00003-2).
- (248) Payne, K. J.; Veis, A. Fourier Transform Ir Spectroscopy of Collagen and Gelatin Solutions: Deconvolution of the Amide I Band for Conformational Studies. *Biopolymers* **1988**, *27* (11), 1749–1760. <https://doi.org/10.1002/bip.360271105>.
- (249) Monrós, G.; Cards, J.; Tena, M. A.; Escribano, P.; Badenes, J.; Cordoncillo, E. Spinets from Gelatine-Protected Gels. *J. Mater. Chem.* **1995**, *5* (1), 85–90. <https://doi.org/10.1039/JM9950500085>.
- (250) Rahman, M.; Dey, K.; Parvin, F.; Sharmin, N.; Khan, R. A.; Sarker, B.; Nahar, S.; Ghoshal, S.; Khan, M. A.; Billah, M. M.; Zaman, H. U.; Chowdhury, A. M. S. Preparation and Characterization of Gelatin-Based PVA Film: Effect of Gamma Irradiation. *Int. J. Polym. Mater.* **2011**, *60* (13), 1056–1069. <https://doi.org/10.1080/00914037.2010.551365>.
- (251) Muniyandy, S.; Sathasivam, T.; Veeramachineni, A.; Janarthanan, P. Dual Cross-Linked Carboxymethyl Sago Pulp-Gelatine Complex Coacervates for Sustained Drug Delivery. *Polymers (Basel)*. **2015**, *7* (6), 1088–1105. <https://doi.org/10.3390/polym7061088>.
- (252) Werner, S.; Haumann, M.; Wasserscheid, P. Ionic Liquids in Chemical Engineering. *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* **2010**, *1* (1), 203–230. <https://doi.org/10.1146/annurev-chembioeng-073009-100915>.
- (253) Zehbe, K.; Lange, A.; Taubert, A. Stereolithography Provides Access to 3D Printed Ionogels with High Ionic Conductivity. *Energy & Fuels* **2019**, *33* (12), 12885–12893. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.9b03379>.
- (254) Lei, Z.; Chen, B.; Koo, Y.-M.; MacFarlane, D. R. Introduction: Ionic Liquids. *Chem. Rev.* **2017**, *117* (10), 6633–6635. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00246>.
- (255) Seo, E.; Kumar, S.; Lee, J.; Jang, J.; Park, J. H.; Chang, M. C.; Kwon, I.; Lee, J. S.; Huh, Y. il. Modified Hydrogels Based on Poly(2-Hydroxyethyl Methacrylate) (PHEMA) with Higher Surface Wettability and Mechanical Properties. *Macromol. Res.* **2017**, *25* (7), 704–711. <https://doi.org/10.1007/s13233-017-5068-y>.
- (256) Wang, Z.; Wu, J.; Shi, X.; Song, F.; Gao, W.; Liu, S. Stereocomplexation of Poly(Lactic Acid) and Chemical Crosslinking of Ethylene Glycol Dimethacrylate (EGDMA) Double-Crosslinked Temperature/PH Dual Responsive Hydrogels. *Polymers (Basel)*. **2020**, *12* (10), 2204. <https://doi.org/10.3390/polym12102204>.
- (257) Martwong, E.; Tran, Y. Lower Critical Solution Temperature Phase Transition of Poly(PEGMA) Hydrogel Thin Films. *Langmuir* **2021**, *37* (28), 8585–8593. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c01165>.
- (258) Bicăk, N.; Koza, G. A Nonhydrolyzable-Water Soluble Crosslinker: Tetrallylpiperazinium Dichloride and Its Copolymers with Acrylic Acid and Acrylamide. *J. Macromol. Sci. Part A* **1996**, *33* (7–8), 375–380. <https://doi.org/10.1080/10601329608019158>.
- (259) Quintanilla de Stéfano, J. C.; Abundis-Correa, V.; Herrera-Flores, S. D.; Alvarez, A. J. PH-Sensitive Starch-Based Hydrogels: Synthesis and Effect of Molecular Components on Drug Release Behavior. *Polymers (Basel)*. **2020**, *12* (9), 1974. <https://doi.org/10.3390/polym12091974>.
- (260) Singh Chandel, A. K.; Kannan, D.; Nutan, B.; Singh, S.; Jewrajka, S. K. Dually Crosslinked Injectable Hydrogels of Poly(Ethylene Glycol) and Poly[(2-Dimethylamino)Ethyl Methacrylate]-b-Poly(N-Isopropyl Acrylamide) as a Wound Healing Promoter. *J. Mater. Chem. B* **2017**, *5* (25), 4955–4965. <https://doi.org/10.1039/C7TB00848A>.

- (261) Hennink, W. E.; van Nostrum, C. F. Novel Crosslinking Methods to Design Hydrogels. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2012**, *64*, 223–236. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.009>.
- (262) parhi, R. Cross-Linked Hydrogel for Pharmaceutical Applications: A Review. *Adv. Pharm. Bull.* **2017**, *7* (4), 515–530. <https://doi.org/10.15171/apb.2017.064>.
- (263) Hu, W.; Wang, Z.; Xiao, Y.; Zhang, S.; Wang, J. Advances in Crosslinking Strategies of Biomedical Hydrogels. *Biomater. Sci.* **2019**, *7* (3), 843–855. <https://doi.org/10.1039/C8BM01246F>.
- (264) Kabir, S. M. F.; Sikdar, P. P.; Haque, B.; Bhuiyan, M. A. R.; Ali, A.; Islam, M. N. Cellulose-Based Hydrogel Materials: Chemistry, Properties and Their Prospective Applications. *Prog. Biomater.* **2018**, *7* (3), 153–174. <https://doi.org/10.1007/s40204-018-0095-0>.
- (265) Rodríguez-Rodríguez, R.; Espinosa-Andrews, H.; Velasquillo-Martínez, C.; García-Carvajal, Z. Y. Composite Hydrogels Based on Gelatin, Chitosan and Polyvinyl Alcohol to Biomedical Applications: A Review. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* **2020**, *69* (1), 1–20. <https://doi.org/10.1080/00914037.2019.1581780>.
- (266) Potaufoux, J.-E.; Odent, J.; Notta-Cuvier, D.; Lauro, F.; Raquez, J.-M. A Comprehensive Review of the Structures and Properties of Ionic Polymeric Materials. *Polym. Chem.* **2020**, *11* (37), 5914–5936. <https://doi.org/10.1039/D0PY00770F>.
- (267) Bian, G.; Pan, N.; Luan, Z.; Sui, X.; Fan, W.; Xia, Y.; Sui, K.; Jiang, L. Anti-Swelling Gradient Polyelectrolyte Hydrogel Membranes as High-Performance Osmotic Energy Generators. *Angew. Chemie* **2021**, *133* (37), 20456–20462. <https://doi.org/10.1002/ange.202108549>.
- (268) Ishihara, M.; Kishimoto, S.; Nakamura, S.; Sato, Y.; Hattori, H. Polyelectrolyte Complexes of Natural Polymers and Their Biomedical Applications. *Polymers (Basel)*. **2019**, *11* (4), 672. <https://doi.org/10.3390/polym11040672>.
- (269) Lin, Y.; Zeng, Z.; Li, Y.; Sun, S.; Liu, X.; He, D.; Li, G. Self-Healing Zwitterionic Sulfobetaine Nanocomposite Hydrogels with Good Mechanical Properties. *RSC Adv.* **2019**, *9* (55), 31806–31811. <https://doi.org/10.1039/C9RA06728K>.
- (270) Mo, F.; Chen, Z.; Liang, G.; Wang, D.; Zhao, Y.; Li, H.; Dong, B.; Zhi, C. Zwitterionic Sulfobetaine Hydrogel Electrolyte Building Separated Positive/Negative Ion Migration Channels for Aqueous Zn-MnO<sub>2</sub> Batteries with Superior Rate Capabilities. *Adv. Energy Mater.* **2020**, *10* (16), 2000035. <https://doi.org/10.1002/aenm.202000035>.
- (271) Carr, L.; Cheng, G.; Xue, H.; Jiang, S. Engineering the Polymer Backbone To Strengthen Nonfouling Sulfobetaine Hydrogels. *Langmuir* **2010**, *26* (18), 14793–14798. <https://doi.org/10.1021/la1028004>.
- (272) Ward, M.; Sanchez, M.; Elasmri, M. O.; Lowe, A. B. Antimicrobial Activity of Statistical Polymethacrylic Sulfopropylbetaines against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *101* (2), 1036–1041. <https://doi.org/10.1002/app.23269>.
- (273) Schönemann, E.; Laschewsky, A.; Wischerhoff, E.; Koc, J.; Rosenhahn, A. Surface Modification by Polyzwitterions of the Sulfobetaine-Type, and Their Resistance to Biofouling. *Polymers (Basel)*. **2019**, *11* (6), 1014. <https://doi.org/10.3390/polym11061014>.
- (274) Schönemann, E.; Koc, J.; Aldred, N.; Clare, A. S.; Laschewsky, A.; Rosenhahn, A.; Wischerhoff, E. Synthesis of Novel Sulfobetaine Polymers with Differing Dipole Orientations in Their Side Chains, and Their Effects on the Antifouling Properties. *Macromol. Rapid Commun.* **2020**, *41* (1), 1900447. <https://doi.org/10.1002/marc.201900447>.
- (275) Koc, J.; Schönemann, E.; Amuthalingam, A.; Clarke, J.; Finlay, J. A.; Clare, A. S.; Laschewsky, A.; Rosenhahn, A. Low-Fouling Thin Hydrogel Coatings Made of Photo-Cross-Linked Polyzwitterions. *Langmuir* **2019**, *35* (5), 1552–1562. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b02799>.

- (276) Hildebrand, V.; Laschewsky, A.; Päch, M.; Müller-Buschbaum, P.; Papadakis, C. M. Effect of the Zwitterion Structure on the Thermo-Responsive Behaviour of Poly(Sulfobetaine Methacrylates). *Polym. Chem.* **2017**, *8* (1), 310–322. <https://doi.org/10.1039/C6PY01220E>.
- (277) Seuring, J.; Agarwal, S. Polymers with Upper Critical Solution Temperature in Aqueous Solution. *Macromol. Rapid Commun.* **2012**, *33* (22), 1898–1920. <https://doi.org/10.1002/marc.201200433>.
- (278) Willcock, H.; Lu, A.; Hansell, C. F.; Chapman, E.; Collins, I. R.; O'Reilly, R. K. One-Pot Synthesis of Responsive Sulfobetaine Nanoparticles by RAFT Polymerisation: The Effect of Branching on the UCST Cloud Point. *Polym. Chem.* **2014**, *5* (3), 1023–1030. <https://doi.org/10.1039/C3PY00998J>.
- (279) Aseyev, V.; Tenhu, H.; Winnik, F. M. Non-Ionic Thermoresponsive Polymers in Water; 2010; pp 29–89. [https://doi.org/10.1007/12\\_2010\\_57](https://doi.org/10.1007/12_2010_57).
- (280) Lewoczko, E. M.; Wang, N.; Lundberg, C. E.; Kelly, M. T.; Kent, E. W.; Wu, T.; Chen, M.-L.; Wang, J.-H.; Zhao, B. Effects of N -Substituents on the Solution Behavior of Poly(Sulfobetaine Methacrylate)s in Water: Upper and Lower Critical Solution Temperature Transitions. *ACS Appl. Polym. Mater.* **2021**, *3* (2), 867–878. <https://doi.org/10.1021/acsapm.0c01191>.
- (281) Vishnevetskaya, N. S.; Hildebrand, V.; Niebuur, B.-J.; Grillo, I.; Filippov, S. K.; Laschewsky, A.; Müller-Buschbaum, P.; Papadakis, C. M. Aggregation Behavior of Doubly Thermoresponsive Polysulfobetaine- b -Poly( N -Isopropylacrylamide) Diblock Copolymers. *Macromolecules* **2016**, *49* (17), 6655–6668. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.6b01186>.
- (282) Swann, J. M. G.; Bras, W.; Topham, P. D.; Howse, J. R.; Ryan, A. J. Effect of the Hofmeister Anions upon the Swelling of a Self-Assembled PH-Responsive Hydrogel. *Langmuir* **2010**, *26* (12), 10191–10197. <https://doi.org/10.1021/la100339f>.
- (283) Delplace, V.; Nickerson, P. E. B.; Ortin-Martinez, A.; Baker, A. E. G.; Wallace, V. A.; Shoichet, M. S. Nonswelling, Ultralow Content Inverse Electron-Demand Diels–Alder Hyaluronan Hydrogels with Tunable Gelation Time: Synthesis and In Vitro Evaluation. *Adv. Funct. Mater.* **2020**, *30* (14), 1903978. <https://doi.org/10.1002/adfm.201903978>.
- (284) Jain, E.; Hill, L.; Canning, E.; Sell, S. A.; Zustiak, S. P. Control of Gelation, Degradation and Physical Properties of Polyethylene Glycol Hydrogels through the Chemical and Physical Identity of the Crosslinker. *J. Mater. Chem. B* **2017**, *5* (14), 2679–2691. <https://doi.org/10.1039/C6TB03050E>.
- (285) Mushi, N. E.; Kochumalayil, J.; Cervin, N. T.; Zhou, Q.; Berglund, L. A. Nanostructurally Controlled Hydrogel Based on Small-Diameter Native Chitin Nanofibers: Preparation, Structure, and Properties. *ChemSusChem* **2016**, *9* (9), 989–995. <https://doi.org/10.1002/cssc.201501697>.
- (286) Ribeiro, M.; de Moraes, M. A.; Beppu, M. M.; Monteiro, F. J.; Ferraz, M. P. The Role of Dialysis and Freezing on Structural Conformation, Thermal Properties and Morphology of Silk Fibroin Hydrogels. *Biomatter* **2014**, *4* (1), e28536. <https://doi.org/10.4161/biom.28536>.
- (287) Morelle, X. P.; Illeperuma, W. R.; Tian, K.; Bai, R.; Suo, Z.; Vlassak, J. J. Highly Stretchable and Tough Hydrogels below Water Freezing Temperature. *Adv. Mater.* **2018**, *30* (35), 1801541. <https://doi.org/10.1002/adma.201801541>.
- (288) Li, X.; Liu, L.; Wang, X.; Ok, Y. S.; Elliott, J. A. W.; Chang, S. X.; Chung, H.-J. Flexible and Self-Healing Aqueous Supercapacitors for Low Temperature Applications: Polyampholyte Gel Electrolytes with Biochar Electrodes. *Sci. Rep.* **2017**, *7* (1), 1685. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01873-3>.
- (289) Rho, J. Y.; Ashman, R. B.; Turner, C. H. Young's Modulus of Trabecular and Cortical Bone Material: Ultrasonic and Microtensile Measurements. *J. Biomech.* **1993**, *26* (2), 111–119. [https://doi.org/10.1016/0021-9290\(93\)90042-D](https://doi.org/10.1016/0021-9290(93)90042-D).
- (290) Weiner, S.; Wagner, H. D. THE MATERIAL BONE: Structure-Mechanical Function Relations. *Annu. Rev. Mater. Sci.* **1998**, *28* (1), 271–298. <https://doi.org/10.1146/annurev.matsci.28.1.271>.

- (291) Wenger, M. P. E.; Bozec, L.; Horton, M. A.; Mesquida, P. Mechanical Properties of Collagen Fibrils. *Biophys. J.* **2007**, *93* (4), 1255–1263. <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.103192>.
- (292) García-Rodríguez, J.; Martínez-Reina, J. Elastic Properties of Woven Bone: Effect of Mineral Content and Collagen Fibrils Orientation. *Biomech. Model. Mechanobiol.* **2017**, *16* (1), 159–172. <https://doi.org/10.1007/s10237-016-0808-z>.
- (293) Adamski, R.; Siuta, D. Mechanical, Structural, and Biological Properties of Chitosan/Hydroxyapatite/Silica Composites for Bone Tissue Engineering. *Molecules* **2021**, *26* (7), 1976. <https://doi.org/10.3390/molecules26071976>.
- (294) Yang, Z.; Chaieb, S.; Hemar, Y.; de Campo, L.; Rehm, C.; McGillivray, D. J. Investigating Linear and Nonlinear Viscoelastic Behaviour and Microstructures of Gelatin-Multiwalled Carbon Nanotube Composites. *RSC Adv.* **2015**, *5* (130), 107916–107926. <https://doi.org/10.1039/C5RA22744E>.
- (295) Echalié, C.; Jebors, S.; Laconde, G.; Brunel, L.; Verdié, P.; Causse, L.; Bethry, A.; Legrand, B.; Van Den Berghe, H.; Garric, X.; Noël, D.; Martinez, J.; Mehdi, A.; Subra, G. Sol–Gel Synthesis of Collagen-Inspired Peptide Hydrogel. *Mater. Today* **2017**, *20* (2), 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2017.02.001>.
- (296) Beisebekov, M. M.; Serikpayeva, S. B.; Zhumagalieva, S. N.; Beisebekov, M. K.; Abilov, Z. A.; Kosmella, S.; Koetz, J. Interactions of Bentonite Clay in Composite Gels of Non-Ionic Polymers with Cationic Surfactants and Heavy Metal Ions. *Colloid Polym. Sci.* **2015**, *293* (2), 633–639. <https://doi.org/10.1007/s00396-014-3463-x>.
- (297) Preller, T.; Runge, G.; Zellmer, S.; Menzel, D.; Azimi Saein, S.; Peters, J.; Raatz, A.; Tiersch, B.; Koetz, J.; Garnweitner, G. Particle-Reinforced and Functionalized Hydrogels for SpineMan, a Soft Robotics Application. *J. Mater. Sci.* **2019**, *54* (5), 4444–4456. <https://doi.org/10.1007/s10853-018-3106-6>.
- (298) Cohen, Y.; Ramon, O.; Kopelman, I. J.; Mizrahi, S. Characterization of Inhomogeneous Polyacrylamide Hydrogels. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **1992**, *30* (9), 1055–1067. <https://doi.org/10.1002/polb.1992.090300913>.
- (299) Ahmadi, M.; Löser, L.; Fischer, K.; Saalwächter, K.; Seiffert, S. Connectivity Defects and Collective Assemblies in Model Metallo-Supramolecular Dual-Network Hydrogels. *Macromol. Chem. Phys.* **2020**, *221* (1), 1900400. <https://doi.org/10.1002/macp.201900400>.
- (300) Akagi, Y.; Matsunaga, T.; Shibayama, M.; Chung, U.; Sakai, T. Evaluation of Topological Defects in Tetra-PEG Gels. *Macromolecules* **2010**, *43* (1), 488–493. <https://doi.org/10.1021/ma9019009>.
- (301) Lindemann, B.; Schröder, U. P.; Oppermann, W. Influence of the Cross-Linker Reactivity on the Formation of Inhomogeneities in Hydrogels. *Macromolecules* **1997**, *30* (14), 4073–4077. <https://doi.org/10.1021/ma961870x>.
- (302) Gibson, L. J. The Hierarchical Structure and Mechanics of Plant Materials. *J. R. Soc. Interface* **2012**, *9* (76), 2749–2766. <https://doi.org/10.1098/rsif.2012.0341>.
- (303) Seiffert, S. Scattering Perspectives on Nanostructural Inhomogeneity in Polymer Network Gels. *Prog. Polym. Sci.* **2017**, *66*, 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2016.12.011>.
- (304) Shibayama, M. Spatial Inhomogeneity and Dynamic Fluctuations of Polymer Gels. *Macromol. Chem. Phys.* **1998**, *199* (1), 1–30. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3935\(19980101\)199:1<1::AID-MACP1>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3935(19980101)199:1<1::AID-MACP1>3.0.CO;2-M).
- (305) Waters, D. J.; Engberg, K.; Parke-Houben, R.; Hartmann, L.; Ta, C. N.; Toney, M. F.; Frank, C. W. Morphology of Photopolymerized End-Linked Poly(Ethylene Glycol) Hydrogels by Small-Angle X-Ray Scattering. *Macromolecules* **2010**, *43* (16), 6861–6870. <https://doi.org/10.1021/ma101070s>.
- (306) Matsunaga, T.; Sakai, T.; Akagi, Y.; Chung, U.; Shibayama, M. Structure Characterization of Tetra-PEG Gel by Small-Angle Neutron Scattering. *Macromolecules* **2009**, *42* (4), 1344–1351. <https://doi.org/10.1021/ma802280n>.

- (307) Nicol, E. Photopolymerized Porous Hydrogels. *Biomacromolecules* **2021**, *22* (4), 1325–1345. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.0c01671>.
- (308) Canal, T.; Peppas, N. A. Correlation between Mesh Size and Equilibrium Degree of Swelling of Polymeric Networks. *J. Biomed. Mater. Res.* **1989**, *23* (10), 1183–1193. <https://doi.org/10.1002/jbm.820231007>.
- (309) Richbourg, N. R.; Peppas, N. A. The Swollen Polymer Network Hypothesis: Quantitative Models of Hydrogel Swelling, Stiffness, and Solute Transport. *Prog. Polym. Sci.* **2020**, *105*, 101243. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2020.101243>.
- (310) Papon, A.; Saalwächter, K.; Schäler, K.; Guy, L.; Lequeux, F.; Montes, H. Low-Field NMR Investigations of Nanocomposites: Polymer Dynamics and Network Effects. *Macromolecules* **2011**, *44* (4), 913–922. <https://doi.org/10.1021/ma102486x>.
- (311) Wittmer, A.; Wellen, R.; Saalwächter, K.; Koschek, K. Moisture-Mediated Self-Healing Kinetics and Molecular Dynamics in Modified Polyurethane Urea Polymers. *Polymer (Guildf)*. **2018**, *151*, 125–135. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2018.07.059>.
- (312) Shkilnyy, A.; Schöne, S.; Rumpel, C.; Uhlmann, A.; Hedderich, A.; Günter, C.; Taubert, A. Calcium Phosphate Mineralization with Linear Poly(Ethylene Imine): A Time-Resolved Study. *Colloid Polym. Sci.* **2011**, *289* (8), 881–888. <https://doi.org/10.1007/s00396-011-2403-2>.
- (313) Georgiev, G. S.; Mincheva, Z. P.; Georgieva, V. T. Temperature-Sensitive Polyzwitterionic Gels. *Macromol. Symp.* **2001**, *164* (1), 301–312. [https://doi.org/10.1002/1521-3900\(200102\)164:1<301::AID-MASY301>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/1521-3900(200102)164:1<301::AID-MASY301>3.0.CO;2-P).
- (314) Huglin, M. B.; Rego, J. M. Influence of Temperature on Swelling and Mechanical Properties of a Sulphobetaine Hydrogel. *Polymer (Guildf)*. **1991**, *32* (18), 3354–3358. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(91\)90538-T](https://doi.org/10.1016/0032-3861(91)90538-T).
- (315) Pokrić, B.; Pučar, Z. Precipitation of Calcium Phosphates under Conditions of Double Diffusion in Collagen and Gels of Gelatin and Agar. *Calcif. Tissue Int.* **1979**, *27* (1), 171–176. <https://doi.org/10.1007/BF02441181>.
- (316) Dorvee, J. R.; Boskey, A. L.; Estroff, L. A. Rediscovering Hydrogel-Based Double-Diffusion Systems for Studying Biomineralization. *CrystEngComm* **2012**, *14* (18), 5681. <https://doi.org/10.1039/c2ce25289a>.
- (317) Kniep, R.; Busch, S. Biomimetic Growth and Self-Assembly of Fluorapatite Aggregates by Diffusion into Denatured Collagen Matrices. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1996**, *35* (22), 2624–2626. <https://doi.org/10.1002/anie.199626241>.
- (318) Busch, S.; Dolhaine, H.; DuChesne, A.; Heinz, S.; Hochrein, O.; Laeri, F.; Podebrad, O.; Vietze, U.; Weiland, T.; Kniep, R. Biomimetic Morphogenesis of Fluorapatite-Gelatin Composites: Fractal Growth, the Question of Intrinsic Electric Fields, Core/Shell Assemblies, Hollow Spheres and Reorganization of Denatured Collagen. *Eur. J. Inorg. Chem.* **1999**, *1999* (10), 1643–1653. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0682\(199910\)1999:10<1643::AID-EJIC1643>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0682(199910)1999:10<1643::AID-EJIC1643>3.0.CO;2-J).
- (319) Göbel, C.; Simon, P.; Buder, J.; Tlatlik, H.; Kniep, R. Phase Formation and Morphology of Calcium Phosphate–Gelatin-Composites Grown by Double Diffusion Technique: The Influence of Fluoride. *J. Mater. Chem.* **2004**, *14* (14), 2225–2230. <https://doi.org/10.1039/B403503H>.
- (320) Parvinezadeh Gashti, M.; Stir, M.; Bourquin, M.; Hulliger, J. Mineralization of Calcium Phosphate Crystals in Starch Template Inducing a Brushite Kidney Stone Biomimetic Composite. *Cryst. Growth Des.* **2013**, *13* (5), 2166–2173. <https://doi.org/10.1021/cg4002434>.
- (321) Wada, N.; Horiuchi, N.; Nishio, M.; Nakamura, M.; Nozaki, K.; Nagai, A.; Hashimoto, K.; Yamashita, K. Crystallization of Calcium Phosphate in Agar Hydrogels in the Presence of Polyacrylic Acid under Double Diffusion Conditions. *Cryst. Growth Des.* **2017**, *17* (2), 604–611. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.6b01453>.

- (322) Busch, S.; Schwarz, U.; Kniep, R. Morphogenesis and Structure of Human Teeth in Relation to Biomimetically Grown Fluorapatite–Gelatin Composites. *Chem. Mater.* **2001**, *13* (10), 3260–3271. <https://doi.org/10.1021/cm0110728>.
- (323) Wu, X.-T.; Cao, Y.; Mei, M. L.; Chen, J.-L.; Li, Q.-L.; Chu, C. H. An Electrophoresis-Aided Biom mineralization System for Regenerating Dentin- and Enamel-Like Microstructures for the Self-Healing of Tooth Defects. *Cryst. Growth Des.* **2014**, *14* (11), 5537–5548. <https://doi.org/10.1021/cg5007633>.
- (324) Wada, Y.; Fujisawa, R.; Nodasaka, Y.; Kuboki, Y. Electrophoretic Gels of Dentin Matrix Proteins as Diffusion Media for in Vitro Mineralization. *J. Dent. Res.* **1996**, *75* (6), 1381–1387. <https://doi.org/10.1177/00220345960750060901>.
- (325) Watanabe, J.; Akashi, M. Novel Biom mineralization for Hydrogels: Electrophoresis Approach Accelerates Hydroxyapatite Formation in Hydrogels. *Biomacromolecules* **2006**, *7* (11), 3008–3011. <https://doi.org/10.1021/bm060488h>.
- (326) Watanabe, J.; Akashi, M. An Electrophoretic Approach Provides Tunable Mineralization Inside Agarose Gels. *Cryst. Growth Des.* **2008**, *8* (2), 478–482. <https://doi.org/10.1021/cg0703487>.
- (327) Huang, J.; Liu, G.; Song, C.; Saiz, E.; Tomsia, A. P. Role of Molecular Chemistry of Degradable PHEMA Hydrogels in Three-Dimensional Biomimetic Mineralization. *Chem. Mater.* **2012**, *24* (7), 1331–1337. <https://doi.org/10.1021/cm203764f>.
- (328) Asenath-Smith, E.; Li, H.; Keene, E. C.; Seh, Z. W.; Estroff, L. A. Crystal Growth of Calcium Carbonate in Hydrogels as a Model of Biom mineralization. *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22* (14), 2891–2914. <https://doi.org/10.1002/adfm.201200300>.
- (329) Song, R.-Q.; Cölfen, H.; Xu, A.-W.; Hartmann, J.; Antonietti, M. Polyelectrolyte-Directed Nanoparticle Aggregation: Systematic Morphogenesis of Calcium Carbonate by Nonclassical Crystallization. *ACS Nano* **2009**, *3* (7), 1966–1978. <https://doi.org/10.1021/nn900377d>.
- (330) Peh, E.; Taubert, A.; Tauer, K. Ammonium Carbonate Gas Diffusion Crystallization in a Continuous Organic Medium Leads to Dendritic Calcium Carbonate. *Matters* **2017**. <https://doi.org/10.19185/matters.201706000012>.
- (331) Han, T. Y.-J.; Aizenberg, J. Calcium Carbonate Storage in Amorphous Form and Its Template-Induced Crystallization. *Chem. Mater.* **2008**, *20* (3), 1064–1068. <https://doi.org/10.1021/cm702032v>.
- (332) Galante, R.; Pinto, T. J. A.; Colaço, R.; Serro, A. P. Sterilization of Hydrogels for Biomedical Applications: A Review. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* **2018**, *106* (6), 2472–2492. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34048>.
- (333) Swaminathan, S.; Cui, Y. Recognition of Poly(Dimethylsiloxane) with Phage Displayed Peptides. *RSC Adv.* **2012**, *2* (33), 12724. <https://doi.org/10.1039/c2ra22137c>.
- (334) Date, T.; Sekine, J.; Matsuno, H.; Serizawa, T. Polymer-Binding Peptides for the Noncovalent Modification of Polymer Surfaces: Effects of Peptide Density on the Subsequent Immobilization of Functional Proteins. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2011**, *3* (2), 351–359. <https://doi.org/10.1021/am100970w>.
- (335) Matsuno, H.; Sekine, J.; Yajima, H.; Serizawa, T. Biological Selection of Peptides for Poly(L-Lactide) Substrates. *Langmuir* **2008**, *24* (13), 6399–6403. <https://doi.org/10.1021/la800844z>.
- (336) Serizawa, T.; Sawada, T.; Matsuno, H. Highly Specific Affinities of Short Peptides against Synthetic Polymers. *Langmuir* **2007**, *23* (22), 11127–11133. <https://doi.org/10.1021/la701822n>.
- (337) Juds, C.; Schmidt, J.; Weller, M. G.; Lange, T.; Beck, U.; Conrad, T.; Börner, H. G. Combining Phage Display and Next-Generation Sequencing for Materials Sciences: A Case Study on Probing Polypropylene Surfaces. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142* (24), 10624–10628. <https://doi.org/10.1021/jacs.0c03482>.

- (338) Adey, N. B.; Mataragnon, A. H.; Rider, J. E.; Carter, J. M.; Kay, B. K. Characterization of Phage That Bind Plastic from Phage-Displayed Random Peptide Libraries. *Gene* **1995**, *156* (1), 27–31. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(95\)00058-E](https://doi.org/10.1016/0378-1119(95)00058-E).
- (339) Serizawa, T.; Fukuta, H.; Date, T.; Sawada, T. Affinity-Based Release of Polymer-Binding Peptides from Hydrogels with the Target Segments of Peptides. *Chem. Commun.* **2016**, *52* (11), 2241–2244. <https://doi.org/10.1039/C5CC09016D>.
- (340) Ejima, H.; Kikuchi, H.; Matsuno, H.; Yajima, H.; Serizawa, T. Peptide-Based Switching of Polymer Fluorescence in Aqueous Phase. *Chem. Mater.* **2010**, *22* (22), 6032–6034. <https://doi.org/10.1021/cm102436s>.
- (341) Suzuki, S.; Sawada, T.; Ishizone, T.; Serizawa, T. Affinity-Based Thermoresponsive Precipitation of Proteins Modified with Polymer-Binding Peptides. *Chem. Commun.* **2016**, *52* (33), 5670–5673. <https://doi.org/10.1039/C6CC00594B>.
- (342) Taylor, T. A.; Unakal, C. G. *Staphylococcus Aureus*; 2021.
- (343) Lopez, D.; Vlamakis, H.; Kolter, R. Biofilms. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2010**, *2* (7), a000398–a000398. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000398>.
- (344) Schneck, E.; Schubert, T.; Konovalov, O. V.; Quinn, B. E.; Gutschmann, T.; Brandenburg, K.; Oliveira, R. G.; Pink, D. A.; Tanaka, M. Quantitative Determination of Ion Distributions in Bacterial Lipopolysaccharide Membranes by Grazing-Incidence X-Ray Fluorescence. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, *107* (20), 9147–9151. <https://doi.org/10.1073/pnas.0913737107>.
- (345) Tibbitt, M. W.; Anseth, K. S. Hydrogels as Extracellular Matrix Mimics for 3D Cell Culture. *Biotechnol. Bioeng.* **2009**, *103* (4), 655–663. <https://doi.org/10.1002/bit.22361>.
- (346) Smithmyer, M. E.; Sawicki, L. A.; Kloxin, A. M. Hydrogel Scaffolds as in Vitro Models to Study Fibroblast Activation in Wound Healing and Disease. *Biomater. Sci.* **2014**, *2* (5), 634–650. <https://doi.org/10.1039/C3BM60319A>.
- (347) Leigh, B. L.; Cheng, E.; Xu, L.; Andresen, C.; Hansen, M. R.; Guymon, C. A. Photopolymerizable Zwitterionic Polymer Patterns Control Cell Adhesion and Guide Neural Growth. *Biomacromolecules* **2017**, *18* (8), 2389–2401. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b00579>.
- (348) Liu, F.; Mih, J. D.; Shea, B. S.; Kho, A. T.; Sharif, A. S.; Tager, A. M.; Tschumperlin, D. J. Feedback Amplification of Fibrosis through Matrix Stiffening and COX-2 Suppression. *J. Cell Biol.* **2010**, *190* (4), 693–706. <https://doi.org/10.1083/jcb.201004082>.
- (349) Neufurth, M.; Wang, X.; Schröder, H. C.; Feng, Q.; Diehl-Seifert, B.; Ziebart, T.; Steffen, R.; Wang, S.; Müller, W. E. G. Engineering a Morphogenetically Active Hydrogel for Bioprinting of Bioartificial Tissue Derived from Human Osteoblast-like SaOS-2 Cells. *Biomaterials* **2014**, *35* (31), 8810–8819. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.07.002>.
- (350) Eslahi, N.; Abdorahim, M.; Simchi, A. Smart Polymeric Hydrogels for Cartilage Tissue Engineering: A Review on the Chemistry and Biological Functions. *Biomacromolecules* **2016**, *17* (11), 3441–3463. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b01235>.
- (351) Zhu, Y.; Zhang, J.; Song, J.; Yang, J.; Du, Z.; Zhao, W.; Guo, H.; Wen, C.; Li, Q.; Sui, X.; Zhang, L. A Multifunctional Pro-Healing Zwitterionic Hydrogel for Simultaneous Optical Monitoring of PH and Glucose in Diabetic Wound Treatment. *Adv. Funct. Mater.* **2020**, *30* (6), 1905493. <https://doi.org/10.1002/adfm.201905493>.
- (352) Feng, X.D., Guo, X.Q. and Qiu, K. Y. Study of the Initiation Mechanism of the Vinyl Polymerization with the System Persulfate/N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine. *Makromol. Chem.* **1988**, *189*, 77–83. <https://doi.org/10.1002/macp.1988.021890108>.

- (353) Guo, X.Q., Qiu, K.Y. and De Feng, X. Studies on the Kinetics and Initiation Mechanism of Acrylamide Polymerization Using Persulfate/Aliphatic Diamine Systems as Initiator. *Makromol. Chem.* **1990**, *191*, 577–587.
- (354) Arar, A.; Mousawi, A. Al; Morlet-Savary, F.; Lalevée, J. Peroxide-Free Redox Initiating Systems for Polymerization in Mild Conditions. *Polym. Chem.* **2021**, *12* (12), 1816–1822. <https://doi.org/10.1039/D1PY00172H>.
- (355) Arar, A.; Wisson, L.; Lalevée, J. New Pure Organic and Peroxide-Free Redox Initiating Systems for Polymerization in Mild Conditions. *Polymers (Basel)*. **2021**, *13* (2), 301. <https://doi.org/10.3390/polym13020301>.
- (356) Akala, E. O.; Elekwachi, O.; Chase, V.; Johnson, H.; Lazarre, M.; Scott, K. Organic Redox-Initiated Polymerization Process for the Fabrication of Hydrogels for Colon-Specific Drug Delivery. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2003**, *29* (4), 375–386. <https://doi.org/10.1081/DDC-120018373>.
- (357) Zhu, W.; Ding, J. Synthesis and Characterization of a Redox-Initiated, Injectable, Biodegradable Hydrogel. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *99* (5), 2375–2383. <https://doi.org/10.1002/app.22674>.
- (358) Savina, I. N.; Ingavle, G. C.; Cundy, A. B.; Mikhailovsky, S. V. A Simple Method for the Production of Large Volume 3D Macroporous Hydrogels for Advanced Biotechnological, Medical and Environmental Applications. *Sci. Rep.* **2016**, *6* (1), 21154. <https://doi.org/10.1038/srep21154>.
- (359) Lozinsky, V. I.; Galaev, I. Y.; Plieva, F. M.; Savina, I. N.; Jungvid, H.; Mattiasson, B. Polymeric Cryogels as Promising Materials of Biotechnological Interest. *Trends Biotechnol.* **2003**, *21* (10), 445–451. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2003.08.002>.
- (360) Sahiner, N.; Seven, F. Energy and Environmental Usage of Super Porous Poly(2-Acrylamido-2-Methyl-1-Propan Sulfonic Acid) Cryogel Support. *RSC Adv.* **2014**, *4* (45), 23886–23897. <https://doi.org/10.1039/C4RA01386G>.
- (361) Kudaibergenov, S. Physicochemical, Complexation and Catalytic Properties of Polyampholyte Cryogels. *Gels* **2019**, *5* (1), 8. <https://doi.org/10.3390/gels5010008>.
- (362) Sener, G.; Krebs, M. D. Zwitterionic Cryogels for Sustained Release of Proteins. *RSC Adv.* **2016**, *6* (35), 29608–29611. <https://doi.org/10.1039/C6RA03009B>.
- (363) Boyaci, T.; Orakdogan, N. PH-Responsive Poly(N,N-Dimethylaminoethyl Methacrylate-Co-2-Acrylamido-2-Methyl-Propanosulfonic Acid) Cryogels: Swelling, Elasticity and Diffusive Properties. *RSC Adv.* **2015**, *5* (94), 77235–77247. <https://doi.org/10.1039/C5RA11634A>.
- (364) Ul'yabaeva, G. R.; Podorozhko, E. A.; Kil'deeva, N. R.; Lozinskii, V. I. Adsorption of an Acid Textile Dye from Aqueous Solutions by a Chitosan-Containing Polyvinyl Alcohol Composite Cryogel. *Fibre Chem.* **2019**, *51* (3), 199–203. <https://doi.org/10.1007/s10692-019-10074-9>.
- (365) Uyar, G.; Kaygusuz, H.; Erim, F. B. Methylene Blue Removal by Alginate–Clay Quasi-Cryogel Beads. *React. Funct. Polym.* **2016**, *106*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2016.07.001>.
- (366) Chen, Y.; Liu, H.; Geng, B.; Ru, J.; Cheng, C.; Zhao, Y.; Wang, L. A Reusable Surface-Quaternized Nanocellulose-Based Hybrid Cryogel Loaded with N-Doped TiO<sub>2</sub> for Self-Integrated Adsorption/Photo-Degradation of Methyl Orange Dye. *RSC Adv.* **2017**, *7* (28), 17279–17288. <https://doi.org/10.1039/C7RA00450H>.
- (367) Sahiner, N.; Yildiz, S.; Sagbas, S. Graphene Oxide Embedded P(4-VP) Cryogel Composites for Fast Dye Removal/Separations. *Polym. Compos.* **2018**, *39* (5), 1694–1703. <https://doi.org/10.1002/pc.24120>.
- (368) Ari, B.; Yetiskin, B.; Okay, O.; Sahiner, N. Preparation of Dextran Cryogels for Separation Processes of Binary Dye and Pesticide Mixtures from Aqueous Solutions. *Polym. Eng. Sci.* **2020**, *60* (8), 1890–1901. <https://doi.org/10.1002/pen.25425>.

- (369) Nguyen, K. T.; West, J. L. Photopolymerizable Hydrogels for Tissue Engineering Applications. *Biomaterials* **2002**, *23* (22), 4307–4314. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00175-8](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00175-8).
- (370) Yazdi, M. K.; Vatanpour, V.; Taghizadeh, A.; Taghizadeh, M.; Ganjali, M. R.; Munir, M. T.; Habibzadeh, S.; Saeb, M. R.; Ghaedi, M. Hydrogel Membranes: A Review. *Mater. Sci. Eng. C* **2020**, *114*, 111023. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111023>.
- (371) Pan, W.; Wallin, T. J.; Odent, J.; Yip, M. C.; Mosadegh, B.; Shepherd, R. F.; Giannelis, E. P. Optical Stereolithography of Antifouling Zwitterionic Hydrogels. *J. Mater. Chem. B* **2019**, *7* (17), 2855–2864. <https://doi.org/10.1039/C9TB00278B>.
- (372) Censi, R.; Schuurman, W.; Malda, J.; di Dato, G.; Burgisser, P. E.; Dhert, W. J. A.; van Nostrum, C. F.; di Martino, P.; Vermonden, T.; Hennink, W. E. A Printable Photopolymerizable Thermosensitive p(HPMAm-Lactate)-PEG Hydrogel for Tissue Engineering. *Adv. Funct. Mater.* **2011**, *21* (10), 1833–1842. <https://doi.org/10.1002/adfm.201002428>.
- (373) Fu, A.; Gwon, K.; Kim, M.; Tae, G.; Kornfield, J. A. Visible-Light-Initiated Thiol–Acrylate Photopolymerization of Heparin-Based Hydrogels. *Biomacromolecules* **2015**, *16* (2), 497–506. <https://doi.org/10.1021/bm501543a>.
- (374) Wang, C.; Stewart, R. J.; Kopeček, J. Hybrid Hydrogels Assembled from Synthetic Polymers and Coiled-Coil Protein Domains. *Nature* **1999**, *397* (6718), 417–420. <https://doi.org/10.1038/17092>.
- (375) Jia, X.; Kiick, K. L. Hybrid Multicomponent Hydrogels for Tissue Engineering. *Macromol. Biosci.* **2009**, *9* (2), 140–156. <https://doi.org/10.1002/mabi.200800284>.
- (376) Palmese, L. L.; Thapa, R. K.; Sullivan, M. O.; Kiick, K. L. Hybrid Hydrogels for Biomedical Applications. *Curr. Opin. Chem. Eng.* **2019**, *24*, 143–157. <https://doi.org/10.1016/j.coche.2019.02.010>.
- (377) Thangprasert, A.; Tansakul, C.; Thuaksubun, N.; Meesane, J. Mimicked Hybrid Hydrogel Based on Gelatin/PVA for Tissue Engineering in Subchondral Bone Interface for Osteoarthritis Surgery. *Mater. Des.* **2019**, *183*, 108113. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.108113>.
- (378) Athukorala, S. S.; Tran, T. S.; Balu, R.; Truong, V. K.; Chapman, J.; Dutta, N. K.; Roy Choudhury, N. 3D Printable Electrically Conductive Hydrogel Scaffolds for Biomedical Applications: A Review. *Polymers (Basel)*. **2021**, *13* (3), 474. <https://doi.org/10.3390/polym13030474>.
- (379) Lee, J. M.; Yeong, W. Y. Design and Printing Strategies in 3D Bioprinting of Cell-Hydrogels: A Review. *Adv. Healthc. Mater.* **2016**, *5* (22), 2856–2865. <https://doi.org/10.1002/adhm.201600435>.
- (380) Billiet, T.; Vandehaute, M.; Schelfhout, J.; Van Vlierberghe, S.; Dubruel, P. A Review of Trends and Limitations in Hydrogel-Rapid Prototyping for Tissue Engineering. *Biomaterials* **2012**, *33* (26), 6020–6041. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.04.050>.
- (381) Wang, J.; Stanic, S.; Altun, A. A.; Schwentenwein, M.; Dietliker, K.; Jin, L.; Stampfl, J.; Baudis, S.; Liska, R.; Grützmacher, H. A Highly Efficient Waterborne Photoinitiator for Visible-Light-Induced Three-Dimensional Printing of Hydrogels. *Chem. Commun.* **2018**, *54* (8), 920–923. <https://doi.org/10.1039/C7CC09313F>.
- (382) Steyrer, B.; Neubauer, P.; Liska, R.; Stampfl, J. Visible Light Photoinitiator for 3D-Printing of Tough Methacrylate Resins. *Materials (Basel)*. **2017**, *10* (12), 1445. <https://doi.org/10.3390/ma10121445>.
- (383) *No Title*. <https://doi.org/https://www.ivoclarvivadent.nl/nl/mediaberichten/ivocerin-report>.
- (384) Zhang, R.; Liberski, A.; Khan, F.; Diaz-Mochon, J. J.; Bradley, M. Inkjet Fabrication of Hydrogel Microarrays Using in Situ Nanolitre-Scale Polymerisation. *Chem. Commun.* **2008**, No. 11, 1317. <https://doi.org/10.1039/b717932d>.
- (385) Delaney, J. T.; Liberski, A. R.; Perelaer, J.; Schubert, U. S. Reactive Inkjet Printing of Calcium Alginate Hydrogel Porogens—a New Strategy to Open-Pore Structured Matrices with Controlled Geometry. *Soft Matter* **2010**, *6* (5), 866. <https://doi.org/10.1039/b922888h>.

- (386) Smith, P. J.; Morrin, A. CHAPTER 1. Reactive Inkjet Printing—An Introduction; pp 1–11. <https://doi.org/10.1039/9781788010511-00001>.
- (387) Ihlenburg, R. B. J.; Lehnen, A.-C.; Koetz, J.; Taubert, A. Sulfobetaine Cryogels for Preferential Adsorption of Methyl Orange from Mixed Dye Solutions. *Polymers (Basel)*. **2021**, *13* (2), 208. <https://doi.org/10.3390/polym13020208>.
- (388) Wang, Y.; Guo, L.; Dong, S.; Cui, J.; Hao, J. Microgels in Biomaterials and Nanomedicines. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2019**, *266*, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.01.005>.
- (389) Plamper, F. A.; Richtering, W. Functional Microgels and Microgel Systems. *Acc. Chem. Res.* **2017**, *50* (2), 131–140. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.6b00544>.
- (390) *Chemical Design of Responsive Microgels*; Pich, A., Richtering, W., Eds.; Advances in Polymer Science; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2011**; Vol. 234. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-16379-1>.
- (391) Oh, J. K.; Dong, H.; Zhang, R.; Matyjaszewski, K.; Schlaad, H. Preparation of Nanoparticles of Double-Hydrophilic PEO-PHEMA Block Copolymers by AGET ATRP in Inverse Miniemulsion. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2007**, *45* (21), 4764–4772. <https://doi.org/10.1002/pola.22230>.
- (392) Cao-Luu, N.-H.; Pham, Q.-T.; Yao, Z.-H.; Wang, F.-M.; Chern, C.-S. Synthesis and Characterization of PNIPAM Microgel Core–Silica Shell Particles. *J. Mater. Sci.* **2019**, *54* (10), 7503–7516. <https://doi.org/10.1007/s10853-019-03317-x>.
- (393) Guan, Y.; Zhang, Y. PNIPAM Microgels for Biomedical Applications: From Dispersed Particles to 3D Assemblies. *Soft Matter* **2011**, *7* (14), 6375. <https://doi.org/10.1039/c0sm01541e>.
- (394) Kim, Y.; Kim, D.; Jang, G.; Kim, J.; Lee, T. S. Fluorescent, Stimuli-Responsive, Crosslinked PNIPAM-Based Microgel. *Sensors Actuators B Chem.* **2015**, *207*, 623–630. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.10.089>.
- (395) *Stimuli Responsive Polymeric Nanocarriers for Drug Delivery Applications, Volume 1*; Elsevier, **2018**. <https://doi.org/10.1016/C2016-0-00601-0>.
- (396) Oh, J. K.; Drumright, R.; Siegwart, D. J.; Matyjaszewski, K. The Development of Microgels/Nanogels for Drug Delivery Applications. *Prog. Polym. Sci.* **2008**, *33* (4), 448–477. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.01.002>.
- (397) Uhlig, K.; Boerner, H.; Wischerhoff, E.; Lutz, J.-F.; Jaeger, M.; Laschewsky, A.; Duschl, C. On the Interaction of Adherent Cells with Thermoresponsive Polymer Coatings. *Polymers (Basel)*. **2014**, *6* (4), 1164–1177. <https://doi.org/10.3390/polym6041164>.
- (398) Ruff, S. M.; Keller, S.; Wieland, D. E.; Wittmann, V.; Tovar, G. E. M.; Bach, M.; Kluger, P. J. ClickECM: Development of a Cell-Derived Extracellular Matrix with Azide Functionalities. *Acta Biomater.* **2017**, *52*, 159–170. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.12.022>.
- (399) Richbourg, N. R.; Peppas, N. A.; Sikavitsas, V. I. Tuning the Biomimetic Behavior of Scaffolds for Regenerative Medicine through Surface Modifications. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* **2019**, *13* (8), 1275–1293. <https://doi.org/10.1002/term.2859>.
- (400) Lalani, R.; Liu, L. Electrospun Zwitterionic Poly(Sulfobetaine Methacrylate) for Nonadherent, Superabsorbent, and Antimicrobial Wound Dressing Applications. *Biomacromolecules* **2012**, *13* (6), 1853–1863. <https://doi.org/10.1021/bm300345e>.
- (401) Vallee, A.; Humblot, V.; Pradier, C.-M. Peptide Interactions with Metal and Oxide Surfaces. *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43* (10), 1297–1306. <https://doi.org/10.1021/ar100017n>.

- (402) Venkatareddy, N. L.; Wilke, P.; Ernst, N.; Horsch, J.; Weber, M.; Dallmann, A.; Börner, H. G. Mussel-Glue Inspired Adhesives: A Study on the Relevance of <sc>I</sc> -Dopa and the Function of the Sequence at Nanomaterial-Peptide Interfaces. *Adv. Mater. Interfaces* **2019**, *6* (13), 1900501. <https://doi.org/10.1002/admi.201900501>.
- (403) Raj, P. A.; Johnsson, M.; Levine, M. J.; Nancollas, G. H. Salivary Statherin. Dependence on Sequence, Charge, Hydrogen Bonding Potency, and Helical Conformation for Adsorption to Hydroxyapatite and Inhibition of Mineralization. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267* (9), 5968–5976. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)42650-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)42650-6).
- (404) Prieto, S.; Shkilnyy, A.; Rumplach, C.; Ribeiro, A.; Arias, F. J.; Rodríguez-Cabello, J. C.; Taubert, A. Biomimetic Calcium Phosphate Mineralization with Multifunctional Elastin-Like Recombinamers. *Biomacromolecules* **2011**, *12* (5), 1480–1486. <https://doi.org/10.1021/bm200287c>.
- (405) Misbah, M. H.; Santos, M.; Quintanilla, L.; Günter, C.; Alonso, M.; Taubert, A.; Rodríguez-Cabello, J. C. Recombinant DNA Technology and Click Chemistry: A Powerful Combination for Generating a Hybrid Elastin-like-Statherin Hydrogel to Control Calcium Phosphate Mineralization. *Beilstein J. Nanotechnol.* **2017**, *8*, 772–783. <https://doi.org/10.3762/bjnano.8.80>.
- (406) Tsukiji, S.; Nagamune, T. Sortase-Mediated Ligation: A Gift from Gram-Positive Bacteria to Protein Engineering. *ChemBioChem* **2009**, *10* (5), 787–798. <https://doi.org/10.1002/cbic.200800724>.
- (407) Popp, M. W.; Antos, J. M.; Grotenbreg, G. M.; Spooner, E.; Ploegh, H. L. Sortagging: A Versatile Method for Protein Labeling. *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3* (11), 707–708. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2007.31>.
- (408) Kühn, P.; Rozenbaum, R.; Perrels, E.; Sharma, P.; van Rijn, P. Anti-Microbial Biopolymer Hydrogel Scaffolds for Stem Cell Encapsulation. *Polymers (Basel)*. **2017**, *9* (12), 149. <https://doi.org/10.3390/polym9040149>.
- (409) Schönemann, E.; Laschewsky, A.; Rosenhahn, A. Exploring the Long-Term Hydrolytic Behavior of Zwitterionic Polymethacrylates and Polymethacrylamides. *Polymers (Basel)*. **2018**, *10* (6), 639. <https://doi.org/10.3390/polym10060639>.
- (410) Romeis, B. *Mikroskopische Techniken*, 16. Auflag.; R. Oldenbourg Verlag, München, 1968.
- (411) Schäler, K.; Roos, M.; Micke, P.; Golitsyn, Y.; Seidlitz, A.; Thurn-Albrecht, T.; Schneider, H.; Hempel, G.; Saalwächter, K. Basic Principles of Static Proton Low-Resolution Spin Diffusion NMR in Nanophase-Separated Materials with Mobility Contrast. *Solid State Nucl. Magn. Reson.* **2015**, *72*, 50–63. <https://doi.org/10.1016/j.ssnmr.2015.09.001>.
- (412) Ecke; Lutter; Scholka; Hansch; Becker; Anderer. Tissue Specific Differentiation of Human Chondrocytes Depends on Cell Microenvironment and Serum Selection. *Cells* **2019**, *8* (8), 934. <https://doi.org/10.3390/cells8080934>.
- (413) Schneider, C. A.; Rasband, W. S.; Eliceiri, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 Years of Image Analysis. *Nat. Methods* **2012**, *9* (7), 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>.
- (414) *Peptide Synthesis and Applications*; Jensen, K. J., Tofteng Shelton, P., Pedersen, S. L., Eds.; Methods in Molecular Biology; Humana Press: Totowa, NJ, **2013**; Vol. 1047. <https://doi.org/10.1007/978-1-62703-544-6>.
- (415) Morse, J. W.; Arvidson, R. S.; Lüttge, A. Calcium Carbonate Formation and Dissolution. *Chem. Rev.* **2007**, *107* (2), 342–381. <https://doi.org/10.1021/cr050358j>.

## **VII. Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit versichere ich, Ramona Bianca Jasmin Ihlenburg, dass ich die vorliegende Arbeit „Sulfobetainhydrogele mit biomedizinischem Anwendungspotential und deren Netzwerkcharakterisierung im Gleichgewichtsquellzustand “ selbstständig und nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere auch, dass diese Arbeit noch an keiner anderen Hochschule eingereicht wurde.

Bremen, den

---

Ramona B. J. Ihlenburg

## VIII. Danksagung

Zuallererst möchte ich mich bei Prof. Andreas Taubert für die Möglichkeit bedanken, diese Arbeit in seiner Gruppe anfertigen zu können. Besonders erwähnenswert sind das entgegengebrachte Vertrauen und die völlig freie Gestaltungsmöglichkeit des Projektes.

Einen speziellen Dank möchte ich an dieser Stelle meiner Mentorin Dr. Christina Günter der Arbeitsgruppe Mineralogie und Dr. Matthias Hartlieb der Arbeitsgruppe Polymere Biomaterialien der Universität Potsdam für ihr immer offenes Ohr und ihre Ratschläge aussprechen.

Außerdem bedanke ich mich bei Prof. Koetz der Universität Potsdam für die Übernahme des Zweitgutachtens und Prof. Lederer für die Anfertigung des externen Gutachtens.

Des Weiteren bin ich folgenden Personen aufgrund verschiedenster Kooperationen, Hilfestellungen etc. zu großem Dank verpflichtet:

AG Taubert der Universität Potsdam

- Stefan Mies (DSC-Messungen und Unterstützung im Labor)
- Matthias Schneider (FDM-Druck) und Kerstin Zehbe (SLA)
- Alyna Lange (IL)
- meinen beiden Bachelorstudentinnen, Svenja Gerhardt und speziell Anne-C. Lehnen

Institut der Chemie der Universität Potsdam

- Dr. Thomas Schwarze und Tobias Sprenger (Fluoreszenzspektroskopie)
- AG Prof. Koetz, speziell Dr. Brigitte Tiersch und Sibylle Rüstig (Kryo-REM)
- Dr. Matthias Hartlieb (Peptidsynthese und Analytik)
- AG Prof. Möller: Analytische Chemie der Universität Potsdam speziell Dr. M. Heydenreich und Frau A. Krtitschka (NMR) und Dr. Ines Starke und Frau S. Fürstenberg (MS)
- AG Prof. Linker Organische Chemie der Universität Potsdam speziell Frau Y. Linde (Elementaranalyse)
- Dr. Sascha Eidner (Raman-Spektroskopie)

### Weitere Institute der Universität Potsdam

- AG Prof. Oberhänsli Mineralogie der Universität Potsdam speziell Frau Dr. Günter (SEM/EDX, XRD)
- AG Prof. Gräf Zellbiologie und AG Prof. Seyfried Zoophysologie speziell Dr. Irene Meyer (selbstständige biologische Studien mit Amöben)
- AG Prof. Arndt speziell Dr. Stefan Hofmann (Bakterientests)

### Kooperationspartner im Bereich Hydrogelanalytik

- Kay Saalwächter Ruth Baerenwald, Lucas Löser der Universität Halle (Saale) (Niederfeld-NMR)
- Dr. Andreas Thünemann, Petra Fengler und Kerstin Brademann-Jock der BAM (DLS, SAXS, Rheologie)

### Kooperationspartner im Bereich Biokompatibilität

- AG Prof. Anderer der BTU Cottbus Senftenberg (Saos-2 Zellen, Chondrozyten, Stereomikroskopie)
- AG Prof. Selhuber Unkel, Reza, Christine Arndt der Universität Kiel (Fibroblasten)
- Dr. Dirk Rothenstein und David Petracek der Universität Stuttgart (Phage Display)

### Weitere Kooperationspartner

- Lisa Rebers (methacrylierte Gelatine)

Wissenschaftlich abschließend möchte ich noch der Arbeitsgruppe Supramolekulare Chemie danken. Vor allem Matthias Schneider („Wizard King 2019“), Alyna Lange (Team „Schlimmer? Geht immer!“ ist stimmungsflexibel), Inga Block (die größte Kaffee-Liebhaberin), Stefan Mies („Die Licht-Reihe“), Fabian Otte („wollen wir noch tauschen?“) Karsten Behrens („Dr. Tobi Berndt“), Kerstin Zehbe („Imperatorix“), Christian Balischewski („Und so zerbröseln die Kekse nun mal“) bin ich sehr dankbar. Die herausragend positive Arbeitsatmosphäre („Mittagstief“, „Teambuildingmaßnahmen der Kerngruppe“ etc....) waren mir zu jeder Zeit eine große Hilfe.

Zuletzt, aber darum nicht am wenigsten bedeutend, möchte ich mich bei meinem Ehemann, meinen Freunden und „Frollegen“ bedanken. Ohne diese Personen wäre diese Arbeit sicher nicht entstanden und fertig geworden.