Herstellung und Untersuchung von antiadhäsiv und antimikrobiell ausgerüsteten Geweben auf Basis von Sulfobetain-modifizierten Polyaminen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Naturwissenschaften
– Dr. rer. nat. –

vorgelegt von

Lisa Maria Timma
(geb. Koch)

geboren in Bocholt

Fakultät für Chemie
der Universität Duisburg Essen
2019

DuEPublico
Duisburg-Essen Publications online

UNIVERSITÄT DUISBURG ESSEN
Offen im Denken

ub | universitäts bibliothek

Diese Dissertation wird über DuEPublico, dem Dokumenten- und Publikationsserver der Universität Duisburg-Essen, zur Verfügung gestellt und liegt auch als Print-Version vor.

DOI: 10.17185/duepublico/71872
URN: urn:nbn:de:hbz:464-20200616-105540-9

Alle Rechte vorbehalten.

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von April 2014 bis April 2019 im Arbeitskreis von Herrn Prof. Jochen S. Gutmann am Deutschen Textilforschungszentrum Nord-West gGmbH - Institut an der Universität Duisburg-Essen und Institut an der Hochschule Niederrhein - durchgeführt.

Tag der Disputation:	08. Juni 2020
Gutachter:	Herr Prof. Dr. Jochen S. Gutmann
Zweitgutachter:	Frau Prof. Dr. Bettina Siebers
Vorsitzender:	Herr Jun.-Prof. Dr. Michael Giese

Danksagung

Ohne die Unterstützung zahlreicher Personen hätte diese Dissertation in dieser Form nicht realisiert werden können. Für die vielfältige Hilfe möchte ich mich an dieser Stelle sehr herzlich bedanken.

Mein besonderer Dank gilt zunächst meinem Doktorvater Prof. Dr. Jochen S. Gutmann, der mir die Möglichkeit gegeben hat diese Arbeit unter seiner Leitung durchzuführen. Dabei hat er meine Arbeit stets mit viel Verständnis, nützlichen Ratschlägen und konstruktiver Kritik unterstützt.

Ich danke ebenfalls Frau Prof. Dr. Siebers für die hilfsbereite und wissenschaftliche Betreuung als Zweitgutachterin.

Für die inhaltliche Ausrichtung und die thematische Eingrenzung danke ich Herrn Dr. Oberthür vielmals. Er hat meine Arbeit über einen langen Zeitraum begleitet und gab mir stets fachliche Hinweise und wertvolle Hilfestellung und hat so maßgeblich zum Abschluss der Arbeit beigetragen. Auch allen Mitarbeitern beim DTNW möchte ich für die wunderbare Zeit danken. Vor allem Harald Fink, Bilal Celik und Jessica Schneider, die mir im Labor immer eine tatkräftige Unterstützung waren. Ein ganz besonderer Dank geht an Dr. Katharina Courth, die mir eine echte Freundin geworden ist und auf der Arbeit immer für Abwechslung sorgte!

Ein großer Dank gilt auch der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Nickisch-Hartfiel an der HSNR in Krefeld und der Arbeitsgruppe von Prof. Gutmann an der Universität Duisburg Essen, da die Mitarbeiter immer mit Rat und Tat zur Verfügung standen und ich auch Ihre Labore jederzeit nutzen konnte.

Mein besonderer Dank gilt schließlich neben vielen Freunden meinen Eltern Gerda und Thomas Koch, die meine Arbeit mit großem Engagement unterstützt haben. Der größte Dank gebührt meinem wunderbaren Ehemann, ohne dessen unermüdliche moralische Unterstützung und die zahlreichen aufbauenden Worte zur richtigen Zeit die vorliegende Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Du hast immer an mich geglaubt. DANKE!

Für meine wunderbare Familie!

Abstract

The aim of this work is to finish textiles with betaine-modified polyamines to obtain textiles with antimicrobial and antiadhesive properties. It was desirable that the properties could be varied, depending on the field of application, and that a multifunctional system be developed.

The backbone were polyamines (PEI and PVAm). Polyamines are contact-active antimicrobial polymers because of their protonated amino groups. Another main component of the generated multifunctional polymers were sulfobetaines. Due to the zwitterionic structure, these compounds form a highly hydrated layer on surfaces intended to prevent adhesion. Used were either commercially available sulfobetaines such as SBMA or sulfobetaines, which had to be synthesized by 1-3 steps (SB1, SB2, SB3) by a Michael Addition. The reaction took place in an aqueous, alkaline medium at high temperature. Sulfobetaines containing a (meth)-acrylate group can be added to polyamines. Due to the variable use of the amount of sulfobetaines, polyamine derivatives with different degrees of substitution were synthesized.

It was shown that it is more advantageous to add sulfobetaines with an acrylate group instead of a methacrylate groups to the polymer, in this way substantially higher degrees of substitution (DS) were possible. With higher DS of the polyamines with sulfobetaines better antiadhesive properties should be achieved. At medium to low DS (< 50%) it can be assumed that the antimicrobial effect of these polymers predominates. The synthesized polyamine derivatives were applied to the textile surface by a simple pad-dry-cure process. It has been shown that the use of PVAm has many advantages over PEIm. For example, PEIm derivatives with a rather low DS of about 35% could no longer be covalently bound to the fiber surface. In addition, the finished textiles turned yellowish to brownish when PEIm derivatives were used. By contrast, PVAm derivatives could still be covalently bound to the fiber even with high DS and were likewise resistant to washing. Also, the textiles did not discolor due to the fixing conditions (150 ° C, 8 minutes).

Tests for antimicrobial activity have confirmed that the antimicrobial activity decreases with increasing DS. In general, the PVAm-g-SB derivatives had a better antimicrobial effect on the gram positive strain *S. aureus* than on the gram negative strain *E. coli*. For *S. aureus*, a log 6-7 reduction in CFU could still be observed for DS=60% on PET. The cotton samples with DS=60% were no longer antimicrobial. The

results for *E. coli* show no antimicrobial effect for PET and cotton for DS=60%, whereas for DS=40% in each case a log 4 reduction could be achieved.

As expected the antiadhesive properties increased with higher DS. However, even samples with a small DS=20% already had a significantly lower adhesion than the untreated reference tissues. The reduction of protein adhesion could be reduced to less than 10% for PET and even for DS=20% it was only about 30%. The comparable BW samples only achieved a reduction of 20% - 70% but thus showed the expected trend. Protein adhesion was even reduced again by up to 5 wash cycles, although after the first wash cycle a significant decrease in add on could be noted. Also, the antimicrobial properties have not significantly lost in effectiveness due to the loss of polymer during the first washing step. Therefore a wash resistant finish was developed which does not lose effectiveness even after washing, and furthermore the protein adhesion could be increased.

Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit sollte es sein, textile Flächengebilde, vor allem Gewebe, auf Basis von Betain-modifizierten Polyaminen so auszurüsten, dass die Textilien anschließend sowohl über antimikrobielle Eigenschaften verfügen als auch antiadhäsive Eigenschaften aufweisen. Optimalerweise sollten die Eigenschaften, je nach Anwendungsgebiet, variiert werden können und so ein multifunktionales System entwickelt werden.

Als Grundgerüst dienten dabei Polyamine (PEIm und PVAm). Polyamine sind auf Grund ihrer protonierbaren Aminogruppen kontaktaktive antimikrobielle Polymere. Weiterer Hauptbestandteil der generierten multifunktionalen Polymere waren Sulfobetaine. Diese Verbindungen bilden wegen des zwitterionischen Aufbaus eine stark hydratisierte Schicht auf Oberflächen aus, welche eine Adhäsion unterbinden soll. Eingesetzt wurden entweder kommerziell erhältliche Sulfobetaine wie zum Beispiel SBMA oder Sulfobetaine, die durch 1-3 Stufensynthesen erst hergestellt werden mussten (SB1, SB2, SB3). Durch eine einfache Michael Addition im wässrigen, basischen Medium bei erhöhter Temperatur lassen sich Sulfobetaine, die eine (Meth-) Acrylatgruppe enthalten an Polyamine addieren. Durch den variablen Einsatz der Menge an Sulfobetainen, wurden Polyaminderivate mit unterschiedlichen Substitutionsgraden synthetisiert.

Dabei zeigte sich, dass es vorteilhafter ist Sulfobetaine mit einer Acrylatgruppe anstatt einer Methacrylatgruppe ans Polymer zu addieren, da auf diese Weise wesentlich höhere Substitutionsgrade möglich waren. Je höher der Substitutionsgrad der Polyamine mit den Sulfobetainen ist, desto antiadhäsiver sollte das modifizierte Polymer sein. Bei mittleren bis niedrigen Substitutionsgraden ist davon auszugehen, dass die antimikrobielle Wirkung dieser Polymere überwiegt. Die so synthetisierten Polyaminderivate wurden durch einen einfachen Tauch-Trocknungs-Fixier Prozess („pad-dry-cure“) auf die Textiloberfläche aufgebracht. Es konnte gezeigt werden, dass die Verwendung von PVAm viele Vorteile gegenüber PEIm ausweist. PEIm-Derivate mit einem recht niedrigen Substitutionsgrad von ca. 35% konnten zum Beispiel schon nicht mehr kovalent an die Faseroberfläche gebunden werden. Außerdem verfärbten sich die ausgerüsteten Textilien bei der Verwendung von PEIm-Derivaten gelblich bis bräunlich. PVAm-Derivate hingegen konnten selbst mit hohen Substitutionsgraden noch kovalent an die Faser gebunden werden und waren ebenfalls waschbeständig. Auch verfärbten sich die Textilien durch die Fixierbedingungen (150°C; 8 Minuten) nicht.

Durch verschiedene Tests bezüglich der Proteinadhäsion, der antimikrobiellen Wirkung und der bakteriellen Adhäsion wurde bestätigt, dass die antimikrobielle Wirkung mit steigendem DS abnimmt. Generell wiesen die PVAm-g-SB Derivate eine bessere antimikrobielle Wirkung gegenüber des gram positiven Stamms *S. aureus* auf als gegenüber des gram negativen *E. coli*. Für *S. aureus* konnte bei PET eine log 6-7 Reduktion der KBE noch für einen DS=60% festgestellt werden. Bei BW hingegen war die Probe mit DS=60% schon nicht mehr antimikrobiell Wirksam. Die Ergebnisse für *E. coli* weisen sowohl für PET als auch für BW ab DS=60% keine antimikrobielle Wirkung mehr auf wo hingegen für DS=40% jeweils noch eine log 4 Reduktion erreicht werden konnte.

Die antiadhäsiven Eigenschaften stiegen wie erwartet mit dem DS. Allerdings wiesen auch Proben mit einem kleinen DS=20% schon eine deutlich niedrigere Adhäsion auf als die unbehandelten Referenzgewebe. Die Reduktion der Proteinadhäsion konnte für PET auf unter 10% gesenkt werden und auch für DS=20% lag sie schon nur noch bei ca. 30%. Die vergleichbaren BW-Proben kamen lediglich auf eine Reduktion von 20% - 70% wiesen damit aber den erwarteten Trend auf. Die Proteinadhäsion wurde durch bis zu 5 Waschzyklen sogar nochmal verringert, obwohl nach dem 1. Waschzyklus eine deutliche Abnahme der Auflage verzeichnet werden konnte. Auch die antimikrobiellen Eigenschaften haben durch den Verlust an Polymer während des ersten Waschschrittes nicht deutlich an der Wirksamkeit verloren, so dass bewiesen wurde, dass eine waschbeständige Ausrüstung entwickelt wurde. Die Beschichtung hat durch das Waschen auch nicht an Effektivität verloren und die Proteinadhäsion konnte dadurch sogar noch gesteigert werden.

Abkürzungsverzeichnis

1	N-[3-Dimethylaminopropyl]acrylamid
2	Propan-1,3-sulton
3	Butan-1,4-sulton
4	3-Dimethylaminopropylamin
5	3-Dimethylaminopropyl-tert-butylcarbamat
6	3-((3-(tert-butylcarbamat)propyl)dimethylammonio)propan-1-sulfonat
BOC_2O	Di-tert-butyldicarbonat
BW	Baumwolle
dest.	destilliert
DMSO	Diemthylsulfoxid
DS	Substitutionsgrad („Degree of Substitution“)
DTNW (ÖP)	Deutsches Textilforschungszentrum Nord-West (Öffentliche Prüfstelle)
EPS	Extrazelluläre Polymere Substanzen
EtOH	Ethanol
FDA	Fluoresceindiacetat
GDA	Glutardialdehyd
ICP-OES	Optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
IR	Infrarotstrahlung
KBE	Koloniebildende Einheit
$M_{ø}$	Ermittelte durchschnittliche Molmasse pro Wiederholungseinheit
M_w	Gewichtsmittlere Molmasse
MWCO	Molecular Weight Cut Off
PC	Phosphorcholin
PEG	Polyethylenglykol

PEGMA	Poly(ethylenglykol)methacrylat
PEIm	Polyethylenimin
PET	Polyethylenterephthalat
PVAm	Polyvinylamin
PVFA	Polyvinylformamid
REM-EDX	Rasterelektronenmikroskopie energiedispersive Röntgenspektroskopie
RT	Raumtemperatur
SAM	self-assambled monolayer
SB1	1-Propanaminium-N,N-dimethyl-N-[3-[(1-oxo-2-propen-1-yl)amino] propyl]-3-sulfonat
SB2	1-Butanaminium-N,N-dimethyl-N-[3-[(1-oxo-2-propen-1-yl)amino]propyl]-4-sulfonat,
SB3	3-((3-Aminopropyl)dimethylammonio)propan-1-sulfonat
SB4	1-Propanaminium, 3-[(3-carboxy-1-oxopropyl)amino]-N,N-dimethyl-N-(3-sulfopropyl)sulfonat
SBMA	[2-(Methacryloyloxy)ethyl]dimethyl-(3-sulfopropyl) ammonium hydroxide
TNBS	Trinitrobenzolsulfonsäure
UV	Ultraviolettstrahlung
VFA	Vinylformamid
WW	Wechselwirkungen
WZ	Waschzyklen
δ	Deformationsschwingung
ν	Valenzschwingung

Inhaltsverzeichnis

Danksagung ..... **V**

Abstract ..... **IX**

Zusammenfassung ..... **XI**

Abkürzungsverzeichnis ..... **XIII**

1 Einleitung und Zielsetzung **1**

2 Theoretische Grundlagen **3**

2.1 Antimikrobielle Wirkstoffe für Textilien **3**

2.2 Bakterienstruktur **7**

2.3 Kationische Polymere als antimikrobielle Wirkstoffe **10**

2.4 Polyamine **12**

2.4.1 Polyethylenimin (PEIm) 12

2.4.2 Polyvinylamin 15

2.5 Biozid-Status von kationischen Polymeren **18**

2.6 Proteinadhäsion an Festkörperoberflächen **19**

2.6.1 „Schwache“ Wechselwirkungen (auch van-der-Waals Wechselwirkungen) 20

2.6.2 Elektrostatische Wechselwirkungen 20

2.6.3 Hydrophobe Wechselwirkungen 21

2.6.4 Sterische Wechselwirkungen (Konformationsentropie) 21

2.7 Klassische Proteinresistente Oberflächen **22**

2.7.1 Amphiphile Oberflächen 23

2.7.2 Hydratation 23

2.7.3 Ladung 24

2.7.4 Topographie 25

2.7.5 Potentiell inerter Substanzklassen 26

3 Methoden **29**

3.1 Charakterisierung der synthetisierten Betaine und modifizierten Polyamine mittels ^{1}H- NMR **29**

3.1.1 Ermittlung des Substitutionsgrads DS von substituierten Polyaminen an Hand der 1H-NMR Spektren ... 29

3.2 Ausrüstung der Textilien ... 34

3.2.1 Vorbehandlung der Textilien ... 34

3.2.2 Ausrüstung von Polyestergewebe mit (modifizierten) Polyaminen ... 35

3.2.3 Oberflächenreaktionen ... 36

3.2.4 Ausrüstung von Baumwollgewebe mit (modifizierten) Polyvinylaminen ... 36

3.3 Charakterisierung der ausgerüsteten Textilien ... 37

3.3.1 Gravimetrische Bestimmung der Beladung ... 37

3.3.2 IR Spektroskopie ... 37

3.3.3 Bestimmung der freien Aminogruppen des ausgerüsteten Gewebes mittels TNBS-Färbung ... 37

3.3.4 Bestimmung der Carboxylgruppen auf PET ... 38

3.3.5 Digitalmikroskopische Aufnahmen ... 38

3.3.6 REM-EDX ... 39

3.3.7 Induktiv gekoppelte Plasma-Emissionsspektroskopie (ICP-OES) ... 39

3.4 Methoden zur Prüfung der Eigenschaften der generierten Oberfläche ... 39

3.4.1 Bestimmung der Proteinadhäsion ... 39

3.4.2 Lebend-Tot-Färbung ... 40

3.4.3 Bakterielle Adhäsion ... 40

3.4.4 Bestimmung der antibakteriellen Eigenschaften ... 41

3.4.5 Bestimmung der zytotoxischen Wirkung mit dem Krefelder Ciliaten-Test ... 42

3.4.6 Plattendiffusionstest ... 42

3.5 Textile Prüfungen ... 43

3.5.1 Bestimmung der Waschbeständigkeit ... 43

3.5.2 Bestimmung des Weißgrads ... 43

3.5.3 Abrasionstest mit dem Martindale ... 43

4 Ergebnisse und Diskussion ... 45

4.1 Synthese und Charakterisierung von Betain-Synthesebausteinen ... 45

4.2 Modifizierung der Polymere ... 48

4.3 Polyethylenimin (PEI) ... 49

4.3.1 Synthese von modifiziertem PEIm ... 49

4.3.2 Erste Ausrüstung von PET mit PEIm ... 52

4.3.3 Ausrüstung von PET mit PEIm-g-SB1 ... 56

4.4 Polyvinylamin (PVAm) ... 57

4.4.1 Vorarbeiten ... 57

4.5 Synthese und Charakterisierung von modifiziertem PVAm 68

Zwischenfazit 69

4.5.1 Versuche zur Verwendung von Cyanurchlorid und Glutardialdehyd (GDA) als Anker zwischen Polyvinylamin und Betainen, die keine (Meth)Acrylate enthalten 73

4.6 Charakterisierung der ausgerüsteten Textilien 74

4.6.1 Visualisierung der freien Aminogruppen auf ausgerüsteten Geweben mittels TNBS-Färbung 74

4.6.2 Gravimetrische Bestimmung der Beladung 77

4.6.3 Induktiv gekoppelte Plasma Emissionsspektroskopie (ICP-OES) 79

4.6.4 Carboxylgruppenbestimmung bei PET 86

4.6.5 REM 88

4.6.6 Digitalmikroskop 89

4.6.7 Plattendiffusionstest 92

4.7 Charakterisierung der Eigenschaften der ausgerüsteten Proben 94

4.7.1 Bestimmung der Proteinadhäsion 94

4.7.2 Lebend-Tot-Färbung 104

4.7.3 Bakterielle Adhäsion 109

4.7.4 Bestimmung der antibakteriellen Eigenschaften 111

4.7.5 Bestimmung der zytotoxischen Wirkung mit dem Krefelder Ciliaten-Test 116

4.8 Textile Prüfungen 119

4.8.1 Bestimmung der Waschbeständigkeit 119

4.8.2 Bestimmung des Weißgrads 129

4.8.3 Abrasion 130

5 Fazit 133

6 Exkurs 139

6.1 Industrieversuche 139

6.1.1 Thorey Gera Textilveredlung GmbH 139

6.2 Ausrüstung von Arbeitskleidung (Polizeihemd) 144

7 Experimenteller Teil 149

7.1 Chemikalien 149

7.2 Geräte und Verbrauchsmaterialien 154

7.3 Puffer und Medien 155

7.4 Allgemeine experimentelle Details 157

7.4.1 Dialyse ... 157
7.4.2 Gefriertrocknung ... 157

7.5 Synthese der Betaine ... 157
7.5.1 Synthese der Sulfobetaine SB1 – SB4 ... 157

7.6 Modifizierung der Polyamine ... 160
7.6.1 Modifizierung von Polyethylenimin (PEI) ... 160
7.6.2 Modifizierung von Polyvinylamin (PVAm) ... 160

Literaturverzeichnis ... XVII

Abbildungsverezichnis ... XXIX

Tabellenverzeichnis ... XXXIII

Schemataverzeichnis ... XXXIV

Publikationsliste ... XXXV

Lebenslauf ... XXXVII

Eidesstattliche Erklärung ... XXXIX

1 Einleitung und Zielsetzung

Im letzten Jahrzehnt hat der Schutz von Textilien und Kleidung vor Mikrobenbefall große Bedeutung für den Verbraucher und den Textilhersteller erlangt [1].

Wenn sich Mikroorganismen (Bakterien, Pilze, Algen, Viren) auf Textilien ungehindert vermehren können, z. B. in Bettwäsche, beeinträchtigt dies das Aussehen und die Qualität der Textilien, das Wohlbefinden des Menschen und eventuell sogar die Gesundheit. Infektionen, Ekzembildung, Allergien und Asthma plagen in zunehmendem Maße die Bevölkerung und könnten durch auf Textilien befindliche Mikroorganismen hervorgerufen werden [2]. Durch mikrobielle Tätigkeit kann auch ein Abbau der Textilfasern erfolgen, was zu einem Verlust an Festigkeit führt.

Außerdem produzieren Mikroorganismen verschiedene Abbauprodukte, die der Mensch unter anderem als unangenehmen Geruch wahrnimmt. Bakterien wandeln z.B. Schweiß in übelriechende Substanzen wie Carbonsäuren, Aldehyde und Amine um [2].

Das Problem mit herkömmlichen antimikrobiellen Textilien ist, dass meist biozide Substanzen wie Nanosilber als Grundlage verwendet wurden. Dadurch, unter anderem wegen der neuen Biozidverordnung, welche 2002 in Kraft trat, wurde die Zulassung der Produkte immer schwieriger, so dass nach Alternativen gesucht wird. Außerdem liegt den meisten antimikrobiellen Textilien ein leaching-Mechanismus zugrunde, so dass die meisten Biozide in die Umgebung abgegeben werden müssen um überhaupt wirken zu können. Das bedeutet, dass mit der Zeit das Textil seine antimikrobielle Eigenschaft verliert und die Umwelt mit den verschiedenen Bioziden angereichert wird. Bei manchen eingesetzten Bioziden, z. B. bei Nanosilber, ist außerdem noch gar nicht ausreichend geklärt, wie die Nanopartikel auf den menschlichen Organismus wirken und wenig über Langzeitschäden bekannt. Deshalb wird nach neuen Systemen gesucht, die die Umwelt geringfügiger belasten. Einen vielversprechenden Ausgangspunkt bilden Polymere, welche als Kontaktbiozide wirken. Der Vorteil solcher antimikrobiellen Polymere ist, dass diese dauerhaft auf der Oberfläche gebunden werden können. So kann die Anreicherung der Umwelt mit Bioziden unterbunden werden. Ein weiterer positiver Nebeneffekt ist, dass das Textil länger Einsatzbereit bleibt, da es seine antimikrobielle Wirkung nicht mit der Zeit verliert, solange die abgestorbenen Zellreste sich nicht auf der Oberfläche absetzen und mit der Zeit die antimikrobiell wirkenden Gruppen der Kontaktbiozide maskieren. Eine Möglichkeit um das Inaktivieren der Kontaktbiozide durch sich ablagernde Zellreste zu verhindern ist, zusätzlich Substanzen einzuarbeiten,

die dafür sorgen, dass eine Adhäsion an der Oberfläche verhindert wird. Bekannt sind solche Substanzen unter anderem aus dem marinen und dem medizinischen Bereich, da es hier wichtig ist, dass kein Fouling (anhaften von Mikroorganismen an Oberflächen mit anschließender Biofilmbildung) stattfindet. Polyethylenglykole (PEGs) werden in diesem Zusammenhang oft eingesetzt, da PEGs eine stark hydratisierte Oberfläche bilden, die ein Anhaften der Zellen erschweren. Der Nachteil der PEGs ist allerdings, dass sie chemisch nicht Langzeitstabil sind und es zum Beispiel durch UV-Strahlung zu einem Abbau der Ethylenglykol Kette kommen kann [3] [4]. Als Alternative werden Zwitterionen eingesetzt. Diese sind chemisch wesentlich stabiler und bilden ebenso eine starke Hydratschicht auf der Oberfläche.

Die vorliegende Dissertation beschäftigt sich mit der Herstellung und Untersuchung von antimikrobiell und antiadhäsiv ausgerüsteten Textilien auf Basis von Sulfobetain-modifizierten Polyaminen. Dabei werden als Kontaktbiozide Polyamine eingesetzt, welche mit Sulfobetainen modifiziert werden um zusätzlich eine antiadhäsive Wirkung zu erhalten. Die auf diesem Weg hergestellten Polymere werden anschließend kovalent auf Polyethylentherphthalat (PET) und Baumwolle (BW) gebunden und auf ihre antimikrobielle und antiadhäsive Wirkung untersucht.

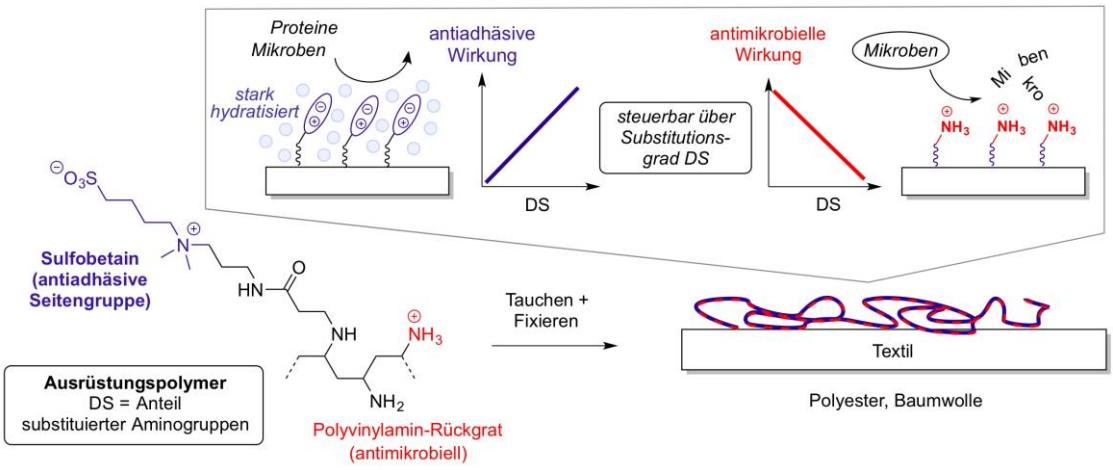


Abbildung 1: Ausrüstung von PET und BW. Erwartete Effekte in Abhängigkeit vom Substitutionsgrad DS des Polyamin-Derivats [5]

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Antimikrobielle Wirkstoffe für Textilien

Durch den Einsatz von antimikrobiellen Wirkstoffen auf Textilien soll das Wachstum von Mikroorganismen auf den Textilien gehemmt werden. Mikroorganismen produzieren verschiedene Abbauprodukte, die auf Oberflächen, wie Geweben, zu unangenehmen Gerüchen führen können. Zum Beispiel wandeln Bakterien manche Bestandteile des menschlichen Schweißes in Carbonsäuren, Amine oder Aldehyde um, die für den Menschen übelriechend sind. Zudem führt ein ungehindertes Wachstum von Mikroorganismen auf Textilien zu Beeinträchtigungen des Aussehens und der Qualität und im schlimmsten Fall sogar zu einer Gefährdung der eigenen Gesundheit [6]. Ein Großteil der Bevölkerung leidet heutzutage an Asthma oder verschiedenen Allergien, die unter anderem auch durch Mikroorganismen hervorgerufen werden können, welche sich auf Textilien, wie zum Beispiel Bettwäsche, ungehindert vermehren [7].

Schon im Altertum war bekannt, dass gewisse Kräuter, Gewürze und Öle eine konservierende Eigenschaft besitzen. So benutzen die Ägypter bei der Einbalsamierung von Mumien ein Salböl, welches u. a. Myrrhe und Zimt enthielt, da beide Stoffe antimikrobielle Substanzen enthalten [8]. Heutzutage gibt es auch eine Vielzahl an synthetischen Wirkstoffen, welche die Vermehrung von Mikroorganismen hemmen. Wirkstoffe, die das Wachstum von Mikroorganismen verhindern, werden Antimikrobiotika genannt [9].

Folgende Ziele sollen durch den Einsatz von antimikrobiellen Wirkstoffen in der Textilindustrie erreicht werden:

- Verhinderung der Übertragbarkeit und der Ausbreitung von pathogenen (krankheitserregenden) Mikroben (z. B. im Hygiene-Bereich)
- Verringerung der Geruchsbildung durch mikrobiellen Abbau (Desodorierung)
- Erhaltung der textilen Eigenschaften, durch geringere Faserschädigung als Folge eines Angriffs von Mikroorganismen

Dabei soll die Ausrüstung von Textilien mit antimikrobiellen Wirkstoffen im besten Fall regenerierbar, umweltschonend, hautfreundlich, ungiftig und dauerhaft sein, selektiv gegen unerwünschte Mikroorganismen wirken und zusammen mit anderen Textilhilfsmitteln einsetzbar sein.

Generell gibt es zwei verschiedene Möglichkeiten eine antimikrobielle Oberfläche zu erzeugen. Im ersten Fall, werden die Mikroorganismen aktiv abgetötet (vgl. Abbildung 2, links). Dabei können Oberflächen ihre biozide Wirkung ausüben, indem sie entweder als Kontaktbiozid wirken oder ein Biozid an die Umgebung abgeben. Ist ein Biozid fest an der Oberfläche verankert, ist dies ein „non-leaching“ Mechanismus. Wird das Biozid an die Umgebung abgegeben, handelt es sich hingegen um einen „leaching“ Mechanismus. Durch ein „leaching“ wird zwangsweise die Umgebung mit dem Biozid angereichert und die Oberfläche verliert langfristig seine antimikrobielle Wirkung. Dies ist beides nicht erstrebenswert, da die Ausrüstung möglichst dauerhaft sein sollte und es bezüglich vieler Biozide immer noch keine Langzeitstudien bezüglich der erhöhten Biozidbelastung in der Umwelt gibt und somit viele den Einsatz von Bioziden, die an die Umgebung abgegeben werden, als bedenklich ansehen [10] [11] [12].

Bei der anderen Möglichkeit kommt ein antiadhäsiver Mechanismus zum Tragen (vgl. Abbildung 2, rechts), der schon das Anhaften von Mikroorganismen an Oberflächen verhindert und somit eine Vermehrung auf der Oberfläche unterbindet [13]. Bekannt ist die Art der Anwendung vor allem aus den Bereichen der Marine (z.B. Schiffsrümpfe), der Biomedizin (Implantate) und der Lebensmittelchemie (Verpackungen). Antiadhäsive Eigenschaften können durch verschiedene Oberflächenmodifikationen erreicht werden. Bekannt sind vor allem drei Möglichkeiten.

1. stark hydrophil
2. polyanionisch
3. stark hydrophob

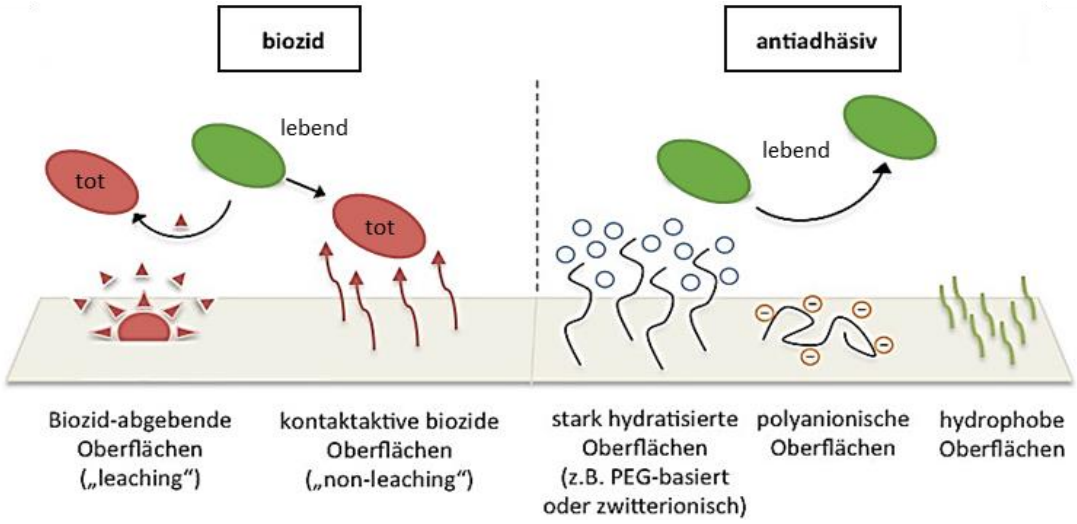


Abbildung 2: Vergleich zwischen einer bioziden und antiadhäsiven Oberfläche

Im Textilbereich wurden bis jetzt noch keine kommerziellen antimikrobiellen Textilien entwickelt, die auf eine antiadhäsive Wirkung beruhen. Alle kommerziell erhältlichen Ausrüstungen, welche antimikrobiell wirken, beruhen auf dem Einsatz von bioziden Wirkstoffen, die in die Faser eingearbeitet wurden. Diese sind entweder kontaktaktiv (Polyhexamethylenbiguanid (PHMB)) oder werden direkt in die Umgebung abgegeben (z. B. Silber oder Silbersalze) [14] [15].

Zur Herstellung von antibakteriell ausgerüsteten Textilien stehen verschiedene chemische als auch physikalische Methoden zur Verfügung. Dabei wird die antibakterielle Wirkung durch Applikation antibakterieller Chemikalien in der Textilveredlung oder durch das Einbringen derartiger Substanzen im Spinnprozess erreicht. Möglichkeiten sind:

- Zusatz mikrobiozider Chemikalien zur Spinnmasse (z.B. „Sanitized“ TPL 89-07 SP für Viskosefasern, Fa. Sanitized, „Chitopoly“ Fa. Fuji Spinning Co.)
- Modifizierung der Faser über Pfropfreaktion oder andere chemische Reaktionen
- Fasermischungen (z.B. Beimischung von Chitosanfasern)
- Ausrüstung des Textils mit geeigneten Wirkstoffen. Nach thermischer Behandlung (Trocknung, Kondensation), werden diese Stoffe durch Einlagerung in Polymere und harzbildende Ausrüstungsprodukte auf dem textilen Flächengebilde fixiert (z.B. „Biosil“ Fa. Toyobo, „Sanitaer“ Fa. Kuraray, „Peach Fresh“ Fa. Nisshinbo)

Der erste bakterio- und fungi-statische Ausrüstungsprozess war das „Sanitized“-Verfahren, in dem antimikrobielle Wirkstoffe der Spinnmasse zugesetzt wurden.

Die wichtigsten Gruppen antimikrobieller Wirkstoffe für Textilien sind organo-metallische Verbindungen, quaternäre Ammoniumsalze und Guianidin, (Tabelle 1) [6].

Tabelle 1: Antimikrobielle Chemikalien [6]

Typ	Chemische Verbindung
Anorganische Chemikalien & Metallverbindungen	Silbersalze, Silber-Zeolithe, Nano-Silber Zink-Pyrithion Kupfersulfonat Titanoxid Eisen-Phthalocyanat
Quarternäre Ammoniumsalze	Didecyldimethylammoniumchlorid Hexadecylpyridiniumchlorid Cetyldimethylbenzylammoniumchlorid Polyoxyalkyltrialkylammoniumchlorid
Guanidin	1,1-Hexamethylen-bis-5-(4-chlorphenyl)-biguaniddigluconat Polyhexamethylenbiguanidhydrochlorid (PHMB)
Phenol	Biozol Thymol, Alkylenbisphenol-Natriumsalz p-Chlor-m-xylenol (PCMX) 5-Chlor-2-(2,4-dichlorphenoxy)-phenol (Triclosan)
Anilin	2-(4-Thiazolyl)-benzimidazol 2-(Thiocyanomethylthio)-benzothiazol (TCMTB)
Imidazol	2-(4-Thiazolyl)-benzimidazol 2-(Thiocyanomethylthio)-benzothiazol (TCMTB)
Naturprodukte	Chitosan Propolis Hinokitol
Ester	Parabene Diethylphthalat

Viele der antimikrobiellen Chemikalien für Textilien wie z.B. organische Zinnverbindungen, organische Quecksilberverbindungen, Chlormetakresole, organische Antimonverbindungen u.a. können eine erhebliche Umweltbelastung bedeuten und auch die Ursache für Hautallergien sein [9]. Es besteht daher Bedarf an ökologisch und toxikologisch einwandfreien antimikrobiellen Hilfsmitteln.

2.2 Bakterienstruktur

Bakterien sind einzellige, prokaryotische Lebewesen im Größenbereich von 0,2 - 1,5 µm. Im Allgemeinen bestehen Bakterien aus Cytoplasma und enthalten sowohl die Nukleinsäuren Ribonukleinsäure (RNS) und Desoxyribonukleinsäure (DNS). Eine Zellmembran umhüllt dabei das Cytoplasma. Für die Bakterienform verantwortlich ist die Zellwand, welche die Zellmembran fest einschließt. Die Zellwand kann entweder von einer schleimigen Kapsel umgeben sein oder Zellanhänge tragen, unter denen die Geißeln von größter Bedeutung sind [16] (siehe Abbildung 3).

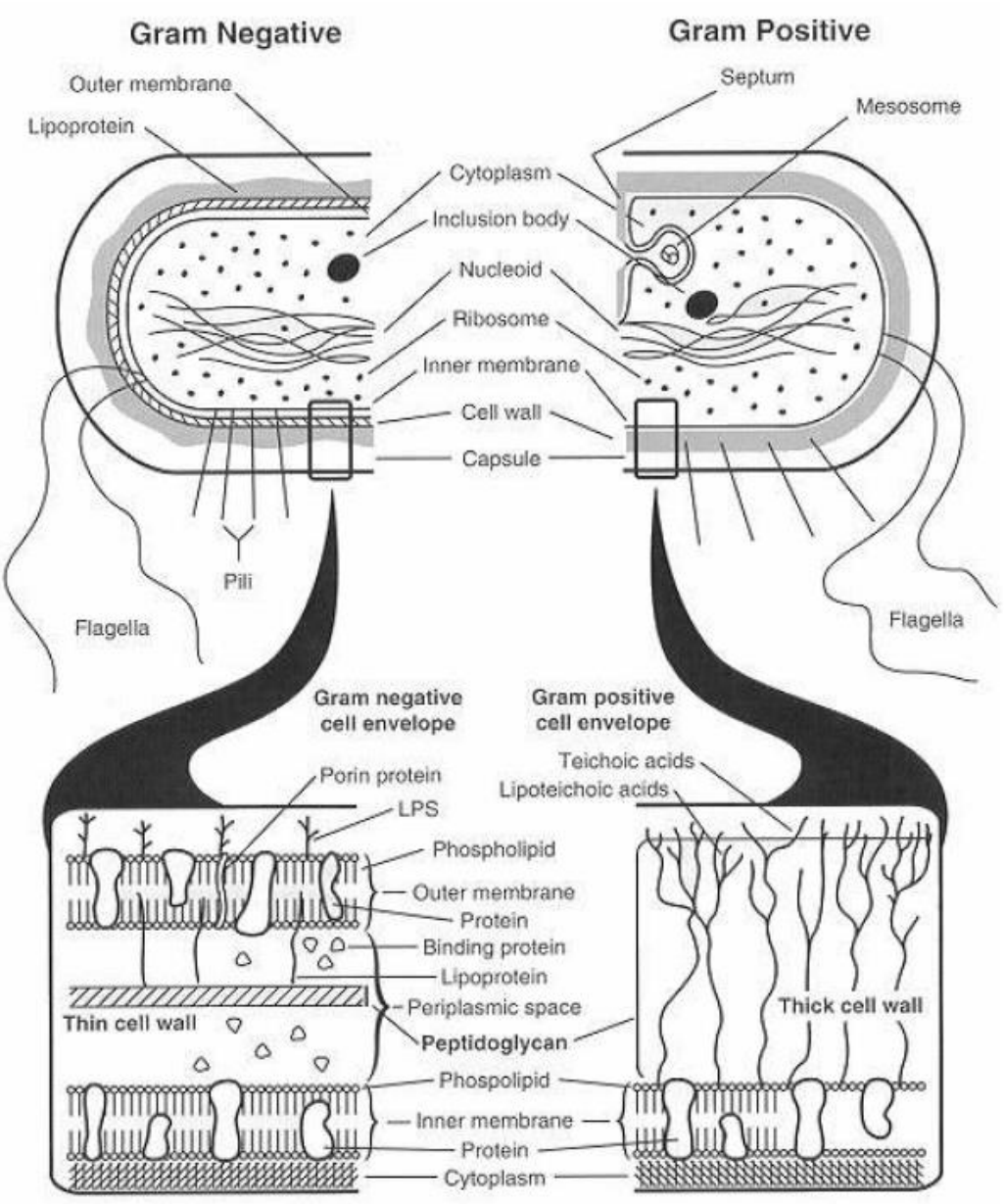


Abbildung 3: Schematische Darstellung einer Bakterienzelle [17]

Die Cytoplasmamembran besteht aus verschiedenen Phospholipiden und Proteinen [18]. Hauptkomponente der Phospholipide sind Zwitterionische Phosphatidylethanolamine (PE) und saures Phosphatidylglycerin (PG) (vgl.

Abbildung 4). Die Cytoplasmamembran von Escherichia coli (gram-negativ) enthält z.B. 75% PE und 25% PG, während Staphylococcus aureus (gram-positiv) 61% an saurem PG und dessen Dimer Cordiolipin enthält [19].

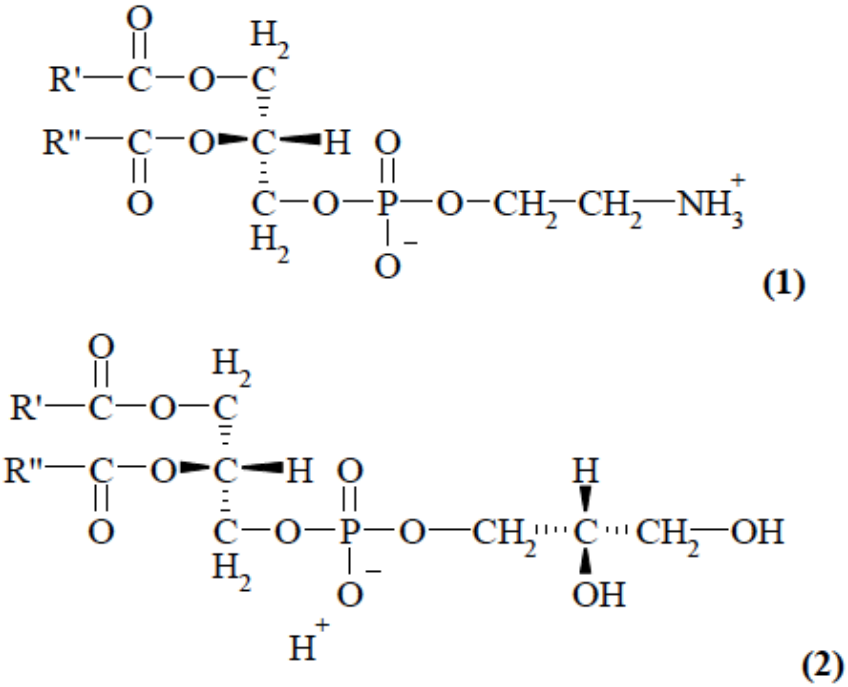


Abbildung 4: Strukturformel der Phospholipide (1) Phosphatidylethanolamine (PE); (2) saures Phosphatidylglycerin (PG)

Phospholipide sind dabei in der Cytoplasmamembran immer in einer Doppelschicht angeordnet (Abbildung 5), wobei die Phosphorsäureester (hydrophile Gruppen) nach außen und die Fettsäureketten (hydrophobe Gruppen) nach innen angeordnet sind [16]. Das Cytoplasma und seine Membran sind in eine starre Zellwand eingeschlossen, deren Grundgerüst aus Murein (Peptidoglykane, zusammengesetzt aus Aminosäuren und Zuckern) besteht, die vernetzt sind. Bakterien werden anhand ihrer Zellwandstruktur in zwei Kategorien - gram-positiv und gram-negativ – unterteilt [16] (Abbildung 3).

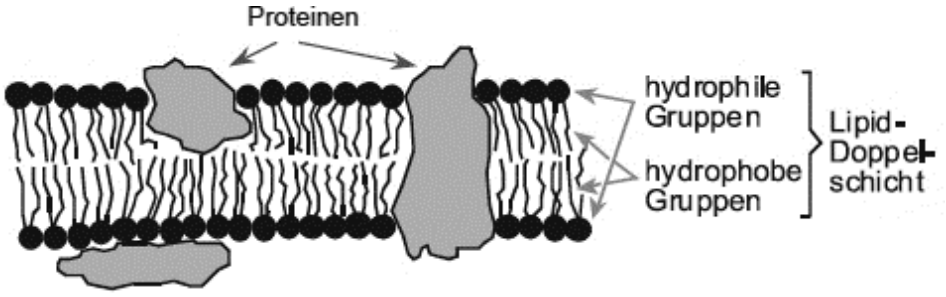


Abbildung 5; Schematische Darstellung einer Cytoplasmamembran [20]

Gram-positive Bakterien haben eine dicke einfache Zellwandstruktur (20-80 nm), die aus Peptidoglykan besteht. Im Gegensatz dazu haben gram-negative Bakterien eine dünnere, jedoch komplizierte Zellwandstruktur, die aus einer äußeren Membran (7,5 - 10 nm) und einer dünnen Schicht aus Peptidoglykan (5-10 nm) besteht [17].

Peptidoglykan ist die Stützsubstanz der Bakterienzellwände, die aus alternierenden β- (1→4)-verknüpften Einheiten von N-Acetyl-D-glucosamin (GlcNAc) und N-Acetyl-muraminsäure (MurNAc) besteht. Die so entstehenden Stränge (Glykosaminoglykan-Ketten) tragen über die Carboxy-Gruppe der MurNAc peptidisch gebundenen Peptidketten, meist Tetra-peptide mit L-Alanin, D-Alanin und D-Glutaminsäure sowie meso-2,6-Diaminopimelinsäure (Dpm) bei gram-negativen und L-Lysin bei gram- positiven Bakterien. Durch Peptid-Bindungen zwischen den Seitengruppen der Aminosäuren verschiedener Makromolekülstränge kommt es zur Ausbildung einer zweidimensionalen, netzartigen Struktur, die als sackartiges Riesenmolekül den Protoplasten einhüllt. Gram-positive Bakterien enthalten zusätzlich noch eine saure Hülle aus Teichonsäuren [20].

Die äußere Membran der Zellwand bei gram-negativen Bakterien besteht aus Phospholipiden, Lipopolysacchariden (LPS) und Proteinen. Die LPS bei gram-negativen Bakterien sind im Prinzip aus 3 Komponenten aufgebaut: Aus dem Lipid A, dem Kern-Oligosaccharid und den O-spezifischen Ketten. Das Lipid A besteht aus phosphorylierten Aminozuckern, die mit langkettigen Fettsäuren verestert sind. Die O-spezifischen Ketten sind an der Membranoberfläche lokalisiert.

2.3 Kationische Polymere als antimikrobielle Wirkstoffe

Kationische Verbindungen sind schon lange als antibakterielle Wirkstoffe bekannt. Domagk entdeckte 1935 diese wichtige Gruppe von antimikrobiellen Wirkstoffen, die auf quaternären Ammoniumsalzen basieren [8].

Die abtötende Wirkung von den quaternären Ammoniumsalzen gegenüber Bakterien wurde in folgenden sechs Schritten zusammengefasst [21]:

I. Kationische Biozide werden an der negativ geladenen Oberfläche der Bakterienzelle adsorbiert
II. Diffusion durch die Zellwand
III. Bindung an die Cytoplasmamembran
IV. Zersetzung der Cytoplasmamenbran
V. Auflösung der Cytoplasmabestandteile
VI. Tod der Baktiereinzelle

Im Jahr 1983 wurde durch Ikeda bewiesen, dass quaternären Ammoniumsalze, welche an Polymere gekoppelt sind, eine bessere antimikrobielle Wirkung als niedermolekulare quaternäre Ammoniumsalze haben, da die polymere Struktur die Schritte I, III und IV begünstigen [22].

Folgend wurden weitere Polymere mit Pyridinium- [23] [24], Phosphonium- [25] [26] [27], Biguanid- [28] und Sulfoniumgruppen [29] auf ihre antibakteriellen Eigenschaften untersucht und auch Studien zum Einfluss verschiedener struktureller Parameter auf die antibakterielle Aktivität durchgeführt [30].

Die wichtigsten Faktoren zusammengefasst:

a) Molekulargewicht

Sowohl Ikeda [22] [31] als auch Kanazawa et. al. [25] haben die antibakterielle Wirkung von Monomeren und den korrespondierenden Polymeren untersucht und vergleichen. Herausgefunden haben sie, dass die polymeren Verbindungen eine deutlich erhöhte antibakterielle Aktivität besitzen im Vergleich zu den niedermolekularen Verbindungen. Vor allem gegenüber gram-positiven Bakterien.

Da alle Bakterien eine leicht negative Gesamtladung besitzen ist zu erwarten, dass Polykationen von der negativ geladenen Oberfläche der Bakterien stärker als niedermolekulare kationische Substanzen adsorbiert werden [22] [31], d.h. Polymere mit kationischen Gruppen begünstigen die Schritte I, III und IV.

Im Gegensatz dazu wird die Diffusion durch die Zellwand (Schritt II) durch die Erhöhung des Molekulargewichtes verschlechtert, da das Polymer nur sehr langsam und mit mehr Widerstand durch die Zellwand diffundieren kann. Dies erklärt die etwas niedrigere Aktivität von Polykationen gegenüber gram-negativen Bakterien, da die Zellwand, wie in Kapitel 2.2. beschrieben, einen komplexeren Aufbau als bei gram-positiven Bakterien aufweist.

Da diese beiden Prozesse der Adsorption und der Diffusion gegenläufig sind, ist davon auszugehen, dass kationische Polymere bei einem gewissen Molekulargewicht ihre höchste antimikrobielle Aktivität haben und mit einer weiteren Erhöhung des Molekulargewichts diese wieder abnimmt.

b) Kationendichte des Polymers

Li et al. haben Copolymere aus 4-Vinylpyridin und Styrol mit unterschiedlichen Verhältnissen synthetisiert [32]. Die Pyridingruppe wurde dabei nachträglich mit Benzylbromid quaternisiert um die positive Ladung zu erhalten. Mit Zunahme der Pyridiniumgruppe im Polymer stieg ebenfalls die antibakterielle Wirksamkeit des Polymers [32]. Die Adsorption des Polykations an die Cytoplasmamembran, durch elektrostatische Wechselwirkungen zwischen negativ geladenen Phospholipiden und dem kationischen Polymer steigt mit zunehmender Kationendichte. Dadurch werden wiederum Schritt I und Schritt III unterstützt.

c) Hydrophobie

Der Einfluss der Hydrophobie auf die antimikrobielle Aktivität von kationischen Substanzen, vor allem quaternären Ammoniumsalzen, wurde schon von vielen Forschern untersucht.

Ikeda et al. [22] [31] haben ebenfalls Poly[dimethylalkyl-3-(und 4-)vinyl-benzylammoniumchlorid] mit verschiedenen Alkylresten (bis C_{15}) dargestellt. Der Dodecyl-Alkylrest des Polykations zeigte dabei die beste antibakterielle Aktivität. Kanazawa et al. untersuchte Poly(trialkyl-3-vinylbenzylphosphoniumchlorid) mit einem Alkylrest von bis zu C_8 und hat ähnliche Beobachtungen gemacht. Dass Polymer mit einem Octyl-Rest hatte hierbei die bessere Wirkung gegenüber Bakterien als kürzere Alkyl-Reste [25].

Bei Poly(dimethylalkyl-4-vinylbenzylphosphoniumchlorid) hingegen nimmt die antimikrobielle Aktivität jedoch ab, wenn die Kettenlänge der Alkylreste von C_{10} bis C_{18} weiter zunimmt [27].

Hydrophobe Alkylgruppen wechselwirken innerhalb der Membran mit den hydrophoben Gruppen der Phospholipide und führen so zum Zerreißen der Cytoplasmamembran was anschließend zum Tod der Bakterienzelle führt. Auch hier wird davon ausgegangen, dass jedes Polymer eine bestimmte Alkylrest-Kettenlänge besitzt, bei der das Zusammenspiel aus hydrophober Seitenkette und kationischem Biozid am besten harmonisiert.

2.4 Polyamine

2.4.1 Polyethylenimin (PEIm)

Aufgrund seiner hohen Ladungsdichte stellt Polyethylenimin eine interessante Klasse an Polymeren für die Anwendung in der Papierindustrie, in der Metallentfernung, der Abwasseraufbereitung sowie in einer Vielzahl von Klebesystemen dar [33]. PEIm besitzt eine hervorragende Hafteigenschaft auf vielen Substraten und findet deshalb auch als Haftvermittler Anwendung. Kommerziell sind Polyethylenimine unter dem Handelsnamen Lupasol® der BASF SE in verschiedenen Molmassen zwischen 800 g/mol und 750.000 g/mol erhältlich [34].

PEIm kommt in zwei Polymerstrukturen vor. Es kann entweder in seiner linearen Form vorliegen, die durch Ringöffnungspolymerisation von 2-Ethyl-2-Oxazolin mit anschließender Hydrolyse erhalten wird oder durch eine säurekatalysierte Polymerisation von Aziridin entsteht hyperverzweigtes PEIm (vgl. Abbildung 6 u. Abbildung 7).
PEIm weist eine hohe Pufferkapazität auf, da das Polymerrückgrat viele protonierbare Stickstoffatome enthält [33] [35] [36] [37].

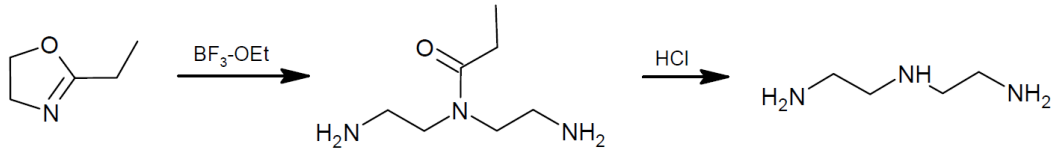


Abbildung 6: Synthese lineares PEIm

Der Reaktionsmechanismen sind in Abbildung 6 und Abbildung 7 dargestellt. Hyperverzweigte Polyethylenimine entstehen in einer kationisch ringöffnenden Polymerisation des Monomers Aziridin. Als Katalysator eignen sich Säuren wie HCl oder *p*-TsOH [33] [35].

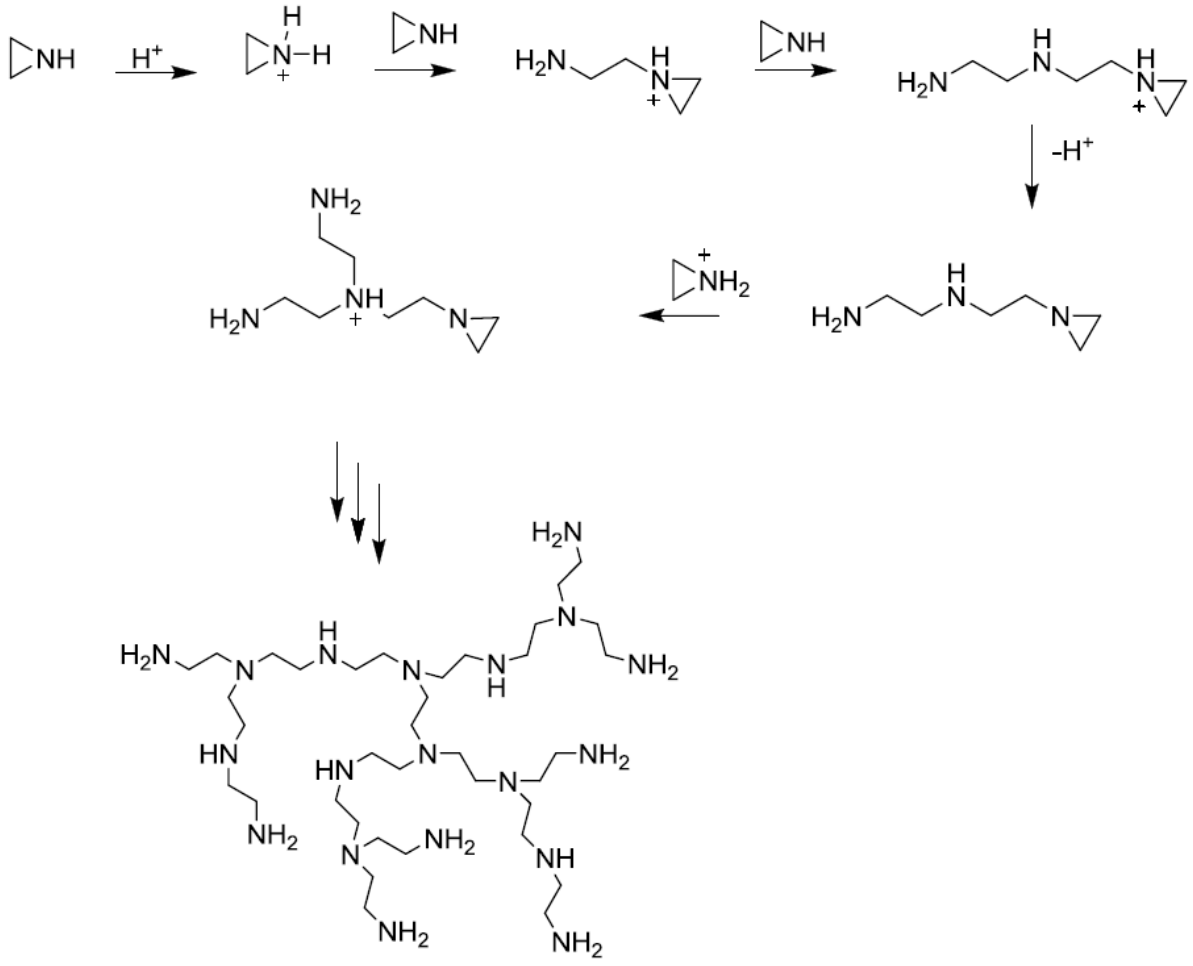


Abbildung 7: Säurekatalysierte kationische Ringöffnungspolymerisation von Aziridin

Die Zugabe einer Säure zu Aziridin führt zur Bildung eines Ammonium-Kations, welches mit weiteren Monomeren zu Polyethylenimin (PEIm) reagiert. Die Verzweigungen entstehen durch Reaktion einer bereits gebildeten Polymerkette mit einem Aziridin-Monomer. Durch die Wahl der Reaktionsbedingungen lässt sich die Struktur des entstehenden PEIs steuern. Niedermolekulare PEIs sind durch Zusatz von Ethylendiamin zugänglich. Wohingegen der Zusatz eines bifunktionellen Alkylierungsmittels wie 1,2-Dichlorethan die Entstehung von hochmolekularen PEIs begünstigt [38].

1973 gelang es LUKOVIN *et al.* durch ^{13}C-NMR-Spektrenvergleich mit Modellverbindungen die Struktur der hyperverzweigten PEI aufzuklären [39]. Der Anteil an primären, sekundären und tertiären Aminen lässt sich mit der *inverse-gated* Methode aus den Integralverhältnissen bestimmen [38]. Daraus kann dann unter Berücksichtigung der von FREY [40] aufgestellten Formel der Verzweigungsgrad berechnet werden. Mittels Lichtstreuung lässt sich die Molmasse am besten bestimmen. Die Standardmethoden wie Größenausschlusschromatographie und Dampfdruck-osmose bringen hingegen das Problem der Wechselwirkungen der protonierten Amine mit den Säulenmaterialien bzw. Gegenionen mit sich [33].

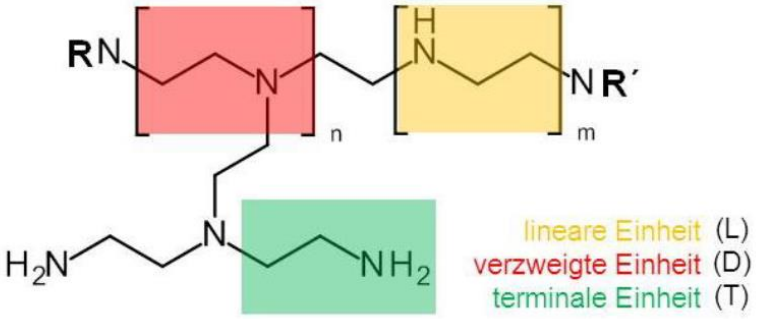


Abbildung 8: Schematische Darstellung des Aufbaus von hyperverzweigtem PEI.

Der Aufbau von hyperverzweigtem PEIm ist durch die Wiederholungseinheit und die allgemeine Strukturformel in Abbildung 8 beschrieben. PEIm sind klare bis leicht trübe, farblose bis gelbe, hochviskose Fluide mit einer Temperaturstabilität von 270 bis 340°C. Hyperverzweigtes PEIm zählt zu den kationischen Polymeren (Polyelektrolyten). Der pKs-Wert liegt im Bereich von 7 - 10 [41].

2.4.2 Polyvinylamin

Polyvinylamin (PVAm) ist ein lineares Polymer mit der in Abbildung 9 dargestellten chemischen Struktur.

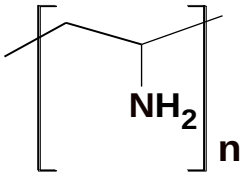
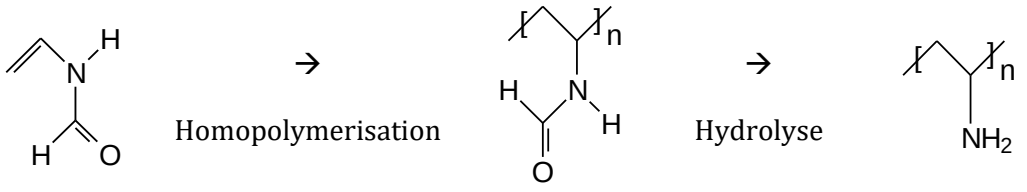


Abbildung 9: Strukturformel von Polyvinylamin (PVAm)

Eine direkte Synthese von Polyvinylamin aus Enamin ist nicht möglich, da das Gleichgewicht der Imin-Enamin-Tautomerie auf der Imin Seite liegt. In größeren Maßstäben kann PVAm demnach nur über polymeranaloge Reaktionen hergestellt werden. 1944 gelang es Zomlefer et al. [42] das erste Mal, bei einer Reaktion von Ethanolamin, Phthalsäure-Anhydrid und Essigsäure-Anhydrid, über mehrere Zwischenstufen Polyvinylamin als Nebenprodukt zu isolieren.



VFA PVFA PVAm

Abbildung 10: Großtechnische Synthese von PVAm aus Vinylformamid mit anschließender Hydrolyse

Ausgehend von N-Vinylformamid (VFA) mittels Homo-Polymerisation zu Polyvinylformamid (PVFA) und anschließender saurer oder alkalischer Hydrolyse, kann Polyvinylamin großtechnisch hergestellt werden [43] [44] [45]. Das entsprechende Reaktionsschema wird in Abbildung 10 dargestellt. Kommerziell sind Polyvinylamine unter dem Handelsnamen Lupamin® der BASF SE in verschiedenen Molmassen erhältlich.

Die Eigenschaften des PVAm hängen stark vom erzeugten Hydrolysegrad und vom Molekulargewicht (8.000 g / mol bis 30.000.000 g / mol) ab. Polyvinylamin ist sehr gut wasserlöslich und reagiert in Abhängigkeit vom pH-Wert im wässerigen Medium als Polyelektrolyt (vgl. Abbildung 11):

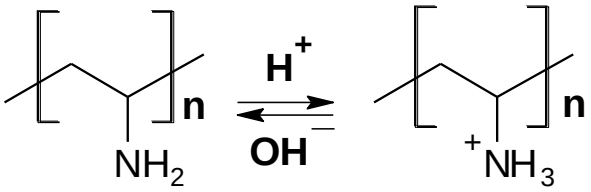


Abbildung 11: Polyvinylamin als kationischer Polyelektrolyt

Mit 23 Milliäquivalenten pro Gramm (meq/g) Polymer weist Polyvinylamin die höchste derzeit bekannte Ladungsdichte für ein technisches Polymer auf. Bei höheren Hydrolysegraden nimmt die Ladungsdichte mit steigendem pH-Wert ab, da immer weniger Aminogruppen protoniert vorliegen. Im Gegensatz zu anderen Polymeren besitzt Polyvinylamin jedoch auch bei hohen pH-Werten (9-10) eine signifikante Ladungsdichte von ~6 meq/g. Bei niedrigen Hydrolysegraden unter 50 % wird die Ladungsdichte jedoch nicht mehr weiter vom pH-Wert beeinflusst [43] [44] [45]. Tabelle 2 fasst die physikalischen Eigenschaften von Polyvinylamin am Beispiel des technischen Produktes Lupamin® 9095 (BASF) zusammen.

Tabelle 2: Physikalische Eigenschaften von Lupamin® 9095 [44]

Aussehen	farblos bis leicht gelblich
Polymergehalt ohne Gegenion	7,3 %
Restmonomergehalt	nicht nachweisbar
Viskosität (20 ºC)	ca. 1500 mPas
Löslichkeit in Wasser	mischbar
Molekulargewicht	ca. 340.000 g/mol
Ladungsdichte	12,8 meq/g bei pH 7
Siedepunkt	100 ºC
Dampfdruck	0,27 hPa
Dichte	1,08 g/cm^3
pH-Wert (20 ºC)	~7

Die toxikologischen und ökotoxikologischen Eigenschaften spielen insbesondere für technische Anwendungen von Polyvinylaminen eine bedeutende Rolle. Daraus geht hervor, dass die Polyvinylamine weder für den Menschen noch für die Umwelt eine potentielle Gefahr darstellen und sich somit auch für textile Anwendungen gut eignen können (vgl. Tabelle 3).

Tabelle 3: Toxikologische und ökotoxikologische Eigenschaften des technischen PVAm Lupamin 9095 [44]

Akute orale Toxizität	LD50 > 2.000 mg/kg
Hautreizwirkung	nicht reizend
Schleimhautreizwirkung	nicht reizend
Bakterientoxizität	EC20 (1/2 h): 886 mg/l
Fischtoxizität (Brachydanio rerio)	LC50 (96 h) : 10 - 100 mg/l
Daphnia Magna	EC50 (48 h) : 10 - 100 mg/l
Eliminationsgrad	> 70%, leicht aus Wasser eliminierbar

Im PVFA möglicherweise noch vorhandenes nicht abreagiertes Formamid oder VFA wird bei der Hydrolyse zu PVAm vollständig entfernt, da von beiden Substanzen die Reaktionsgeschwindigkeit signifikant höher ist.

Ein wichtiges Anwendungsgebiet für Polyvinylamin ist auch hier die Papier- und Zellstoffindustrie. Dort dient es als kationischer Polyelektrolyt zur physikochemischen Störstoffbehandlung und zusätzlich wird es bei der Papierherstellung zur Fixierung sowie zur Nass- und Trockenverfestigung verwendet [46] [47].

Bedingt durch die protonierbaren und auch quaternisierbaren Aminogruppen, bzw. über Substitutionsreaktionen am Aminstickstoff, ist bei Polyvinylamin eine bakterizide / bakteriostatische Wirkung zu erwarten. In diese Richtung zielten bereits Arbeiten von Degussa-Hüls, die „Sustainable Antimicrobial Polymers“ auf Basis von Vinylaminderivaten ab [48].

2.5 Biozid-Status von kationischen Polymeren

Die Begriffe Bakterizide (Biozide) und Bakteriostatika werden im Römpp Chemie-Lexikon wie folgt definiert [20]:

> **Bakterizide**: „Bezeichnung für zu den Mikrobioziden (früher Biozide) gehörende Stoffe mit Bakterien *abtötender Wirkung*. Im Unterschied zu den Bakteriostatika setzt nach Entfernung der Bakterizide das Wachstum und die Vermehrung der Bakterienzellen nicht wieder ein".
>
> **Bakteriostatika**: „Bezeichnung für Substanzen, die das *Wachstum* von Bakterien *hemmen oder verhindern*. Kennzeichnend für Bakteriostatika (im Gegensatz zu Bakteriziden) ist, dass das Bakterienwachstum nach Entfernung der Bakteriostatika wiedereinsetzt".

Nach dem Biozidgesetz, welches seit dem 28.06.2002 in Kraft getreten ist, und der Biozidverordnung vom 04.07.2002 ist die im Römpp Chemie-Lexikon wiedergegebene Definition von Bakteriziden allerdings nicht mehr ausreichend, um alle Bakterizide ausreichend zu unterscheiden und anhand deren Wirkmechanismus einzustufen. Nach Biozidgesetz und Biozidverordnung wird auch das Risiko der Abgabe von bioziden Substanzen in die Umwelt bzw. das Risiko für Mensch, Tier und Umwelt bei der Bewertung von Biozid-Produkten bewertet, welches früher nicht berücksichtigt wurde. Mit Hilfe des neuen Biozidgesetzes und der Biozidverordnung, wird dieses Risiko nun mitbewertet und entscheidet ebenfalls darüber, ob eine Substanz als bedenklicher Stoff eingestuft wird [49] [50].

In mehreren Publikationen werden polymere Phosphoniumsalze als kationische antimikrobielle Wirkstoffe beschrieben (Kanazawa et al., [25] [26] [27] [51]). Das würde bedeuten, dass polymere Phosphoniumsalze eher als Bakterizide als als Bakteriostatika einzustufen sind [51]. Das Hohensteiner Institut legte allerdings am Beispiel von Chitosan dar, dass die Wirkprinzipien noch nicht ausreichend erforscht sind und deshalb noch keine eindeutige Klassifizierung möglich ist [52]. Allerdings wird ebenfalls geschrieben [52]: „Als schwach wirksam gelten Modifikationen, die nicht von der Faseroberfläche freigegeben werden. Ihre Wirksamkeit kommt nur bei direktem Kontakt mit den Mikroorganismen zustande. Diese neuen antimikrobiellen Modifikationen wurden unter Beachtung medizinischer, toxikologischer und ökologischer Vorgaben entwickelt. Diese innovativen Produkte werden nicht mehr textile Ausrüstungen, sondern textile Modifikationen genannt, um Verwechslungen mit früheren bioziden und hoch-diffusiven Ausrüstungen zu vermeiden". Deswegen ist es

ratsam, die kationischen Polymere kovalent auf Textilien anzubinden, so dass die Diffusion der Polymere, zum Beispiel in den Schweiß, unterdrückt wird.

In einem anderen Artikel von Kim et al. der über die Synthese mehrerer Chitinderivate wurde berichtet und darlegt, dass diese eher als Bakteriostatikum und nicht als Bakterizid anzusehen sind [53]. Außerdem wird in diesem Artikel beschrieben, dass kationische Biozide im Allgemeinen nur bei sehr hohen Konzentrationen wirklich bakterizide Aktivität zeigen, während bei niedrigeren Konzentrationen eine bakteriostatische Wirkung vorliegt.
Ebenfalls heißt es in einem U.S. Patent: „Biocidal Chitosan Derivatives“, dass quaternäre Ammoniumpolymere als Bakteriostatika betrachtet werden können. Dort steht: „Quaternary ammonium polymers have previously been considered bacteriostatic, not bactericidal, because they require long contact times to actually kill microorganisms, and generally do not have broad spectrum activity “ [54].
Zusammenfassend kann davon ausgegangen werden, dass kationische Polymere, welche fest an die Faser gebunden sind, eher als Bakteriostatika betrachtet werden können, da einerseits die Konzentration auf der Haut und im Schweiß sehr niedrig ist und andererseits das Polymer nicht an die Umgebung abgegeben wird.

2.6 Proteinadhäsion an Festkörperoberflächen

Wenn ein Festkörper mit einer wässrigen Proteinlösung in Kontakt kommt, wird für fast alle Materialien eine spontane Adsorption der Proteine an der Oberfläche beobachtet. Diese Oberflächenaktivität resultiert nach dem derzeitigen Stand aus einer Reihe von direkten Wechselwirkungen (elektrostatisch, hydrophob) und auch indirekten („entropische Effekte“) Ursachen. Oft führt eine Adsorption der Proteine an Oberflächen zu einer anschließenden Denaturierung der Proteine, wodurch diese häufig ihre Funktion verlieren [55]. Der Aufbau von Proteinen ist allgemein sehr komplex und resultiert aus den vielen Aminosäuresequenzen und der daraus resultierenden Sekundär- und Tertiärstruktur. Die 20 Aminosäuren können in 3 Gruppen unterteilt werden:

- Aminosäuren mit polaren, hydrophilen Seitenketten
- Aminosäuren mit unpolaren, hydrophoben Seitenketten
- Aminosäuren mit positiv oder negativ geladenen Seitenketten

Die Proteinteritärstruktur wird durch den meist hydrophoben Proteinkern stabilisiert. Polare und geladene Aminosäuren befinden sich hingegen eher auf der äußeren

Proteinoberfläche. Durch diesen amphiphilen Charakter ist die Oberflächenaktivität sehr hoch. Die Proteinadsorption an einem Festkörper hängt jedoch nicht nur von der Struktur des Proteins ab, sondern wird vor allem von den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Festkörperoberfläche bestimmt. Für hydrophobe Oberflächen ist die Oberflächenaffinität der Proteine wesentlich größer als für hydrophile. Allerdings gibt es auch Ausnahmen. Zum Beispiel ist die Proteinadsorption auf Glas relativ gut [55].

In den letzten Jahren wurden umfangreiche Untersuchungen zu den Triebkräften der Proteinadsorption gemacht und werden im Folgenden kurz dargestellt:

2.6.1 „Schwache“ Wechselwirkungen (auch van-der-Waals Wechselwirkungen)

Die „schwachen“ Wechselwirkungen (WW) hängen von der Geometrie der wechselwirkenden Strukturen ab und spielen vor allem bei kleinen Abständen zur Oberfläche eine wichtige Rolle [56]:

- WW zwischen zwei permanenten Dipolen
- WW zwischen einem permanenten und einem induzierten Dipol
- WW zwischen zwei induzierten Dipolen (London- oder Dispersions-Kräfte bzw. van-der-Waals-Kräfte)

2.6.2 Elektrostatische Wechselwirkungen

Die ionischen oder auch elektrostatischen WW hängen sowohl von der Ladungsdichte, d.h. der Anzahl an geladenen Aminosäuren im Protein ab, als auch von der elektrolytischen Umgebung des Proteins (Puffer) bzw. von der Ladungsdichte an der Festkörperoberfläche. Dabei können gelöste mono-(Na+, K+) oder divalente (Ca2+, Mg2+) Metallionen die geladenen Aminosäuren gegenüber Wechselwirkungen mit der Oberfläche abschirmen. Die elektrostatischen WW sind im Vergleich zu den „schwachen“ Wechselwirkungen geometrie- und richtungsabhängig. Allerdings besitzen sie eine wesentlich größere Reichweite und sind betragsmäßig ebenfalls häufig größer als die van-der-Waals-Kräfte [57].

2.6.3 Hydrophobe Wechselwirkungen

Die wichtigste Triebkraft für die Adsorption von Proteinen an Grenzflächen sind die hydrophoben Wechselwirkungen [55] [58]. In wässrigen Puffern besitzen unpolare Gruppen allgemein nur eine sehr schwache Löslichkeit, da eine starke Entropieabnahme durch die Ausbildung hochgeordneter „Wasserkäfige“ (engl. „low-entropy water“) entlang der hydrophoben Kontaktflächen zustande kommt. Sowohl WW zwischen unpolaren Gruppen untereinander und WW zwischen polaren Gruppen untereinander (z.B. Wasser-Wasser) sind günstiger sind als WW zwischen unpolaren und polaren Gruppen. Wie in Kapitel 2.6 bereits erwähnt kommen hydrophobe Aminosäureseitenketten auf der Proteinoberfläche in der Regel nur vereinzelt vor während im Proteinkern hydrophobe Seitenketten häufiger anzutreffen sind. Sobald die hydrophoben Aminosäureseitenketten demnach mit der Oberfläche in Wechselwirkung treten, fällt der hydrophobe Proteinkern auseinander. Die Tertiärstruktur des Proteins geht meist irreversibel verloren und das Protein denaturiert. Der Betrag der Gesamtbindungsenergie der hydrophoben WW von Proteinen an Festkörpern dominiert hierbei deutlich über die elektrostatischen und van-der-Waals WW. Die Polarität der Oberfläche bestimmt die hydrophoben WW stark. Am stärksten ist die WW deshalb mit hydrophoben Oberflächen, da sowohl die Oberfläche als auch das Protein durch die Adsorption vor dem direkten, entropisch ungünstigen, Kontakt mit Wasser bewahrt wird. Im Gegensatz zu den polaren WW besitzen die hydrophoben WW nur eine relativ niedrige Reichweite und sind zudem nicht orientierungsabhängig [59].

2.6.4 Sterische Wechselwirkungen (Konformationsentropie)

Bei Proteinen handelt es sich um komplexe Makromoleküle, deren Tertiärstruktur durch intramolekulare Wechselwirkungen im Proteinkern (hydrophobe WW) stabilisiert wird. Der Unterschied zwischen der Enthalpie eines gelösten, ungefalteten und eines gelösten, gefalteten Proteins liegt zwischen 20 - 60 kJ/mol und ist damit recht klein. Das heißt, dass Proteine dynamische, flexible und instabile Objekte sind, die bereits auf leichte Veränderungen in ihrer Umgebung reagieren und es sich keinesfalls um starre dreidimensionale Objekte mit fester Faltung handelt. Das Anbieten einer organischen Oberfläche, stellt schon eine solche „leichte“ Veränderung dar. Oft kommt es in Folge der Adsorption zu Konformationsänderungen in der Proteinstruktur, was durch viele experimentelle Studien belegt ist [55] [58]. Durch die Konformationsveränderung, induziert durch die Adsorption, kommt es zu einer Zunahme der Bindungsenergie des

Proteins an die Oberfläche. Dabei kommen sowohl entropische Effekte als auch energetische Effekte zum Tragen. Die Gesamtzunahme der Enthalpie kann dabei so groß sein, dass die Adsorption unter physiologischen Bedingungen praktisch irreversibel ist [60] [61].

2.7 Klassische Proteinresistente Oberflächen

Viele biologische Oberflächen in der Natur unterbinden den Befall durch Biofouling in jeglicher Form. Dabei sind die verschiedenen Abwehrstrategien immer eine Kombination aus mechanischen, physikalischen und chemischen Aspekten die den Erfolg ausmachen [62] [63]. Die Strukturierung der biologischen Antifouling Oberfläche spielt dabei die größte Rolle. Beste Beispiele sind die mikroporöse Hai- und Walhaut, Muschelschalen oder auch Algenoberflächen [64]. Neben den physikalischen Aspekten kommen zusätzlich noch oft bioaktive Substanzen zum Einsatz. Die Haut des Pilotwals weist eine effektive Kombination aus verschiedenen Antifouling-Faktoren auf: Einerseits eine nanoporöse Strukturierung, wodurch die Anhaftung verschiedener Organismen deutlich reduziert wird und andererseits sind die Zwischenräume mit einem Gel gefüllt, das die Adhäsive von anhaftenden Mikroorganismen hydrolisiert [64] [65].

Durch die Arbeiten von Whitesides et. al., der sich hauptsächlich auf proteinresistente Oberflächen fokussierte, wurden Oberflächeneigenschaften herausgestellt die im Zusammenhang mit deren Proteinresistenz stehen [66] [67] [68] [69]. So sind Oberflächen potentiell inert, wenn sie:

- hydrophil sind,
- über Wasserstoffbrücken-Akzeptoren aber keine Wasserstoffbrücken-Donatoren verfügen und
- insgesamt elektrisch neutral sind

Auch wenn diese „Design-Regeln“ viele Bereiche abdecken, treffen sie nicht immer komplett zu und sind auch nicht vollständig.

Folgend wird der Einfluss einzelner Oberflächeneigenschaften detaillierter erläutert.

2.7.1 Amphiphile Oberflächen

Solche doppelt-funktionellen Beschichtungen weisen für die Organismen anscheinend unklare Eigenschaften aus, da sie ihre Konformation umgebungsabhängig ändern können und so eine permanente Adhäsion verhindern [70] [71] [72]. Der Erfolg dieses amphiphilen Konzepts wurde schon mehrfach in der Literatur belegt [73]. Gudipati et al. beispielsweise berichten über fluorierte PEG-Polymere, die sich sowohl durch hohe Proteinresistenz als auch gute „Fouling-Release"-Eigenschaften auszeichnen [74]. Außerdem zeigen amphiphile Block-Copolymere vielversprechende Eigenschaften: sie reduzierten Besiedlungsdichte und Adhäsionsstärke von Ulva Sporen und auch Navicula. Diese zwei Spezies weisen normalerweise, auf Beschichtungen gleicher Benetzbarkeit basierend, entgegengesetzte Adhäsions-Präferenzen auf [75] [71] [76] [72].

2.7.2 Hydratation

Anhand von Polyethylenglykol (PEG)-basierten Beschichtungen wurde die Fähigkeit zur Hydratation als wichtige Eigenschaft für proteinresistente Oberflächen identifiziert. Da bei solchen Polymere jedoch viele Parameter, wie zum Beispiel die Kettenlänge, variabel sein können und in Wechselwirkung mit der Umgebung treten, wurde der Einfluss der Hydratation durch systematische Untersuchungen von SAMs mit variablen Endgruppen untersucht [66] [58] [77]. Durch diese Untersuchungen gelang es, den Grad der Hydratation innerhalb der EG-Terminierung zu bestimmen. Außerdem konnte so auch der Einfluss der „sterischen Repulsion" für die Proteinresistenz minimiert werden [78]. Dabei konnte ein Zusammenhang zwischen der Anzahl der Ethylenglykol-Einheiten und der Fähigkeit Wasser fest in tiefere Bereiche als nur der Oberfläche einzulagern hergestellt werden [77] [79].

Ob die Anlagerung von Proteinen an eine Oberfläche irreversibel ist, hängt dann davon ab, ob die Verdrängung des Hydratationswassers an der Grenzfläche ein energetisch günstiger Prozess ist (vgl. auch Kap. 2.6.4) [80] [81] [82] [83]. Anhand der Adhäsion von Proteinen und Ulva-Sporen bestätigten Schilp et. al. diesen Zusammenhang und legten dar, dass mindestens zwei Ethylenglykol-Einheiten nötig sind um eine Reduzierung der Adhäsion zu erzeugen. Mit weiterer Erhöhung der Ethylenglykol-Einheit nahmen sowohl die adsorbierte Menge an Protein als auch die Sporendichte bis zur vollständigen Resistenz weiter ab. In einer analogen Studie mit marinen Bakterien wurde die gleiche

Tendenz beobachtet: Mit steigender Ethylenglykol-Kettenlänge sank die Haftstärke der Bakterien [84] [85].

Ob ein hoher Hydratationsgrad allein ausreicht, um Adhäsion vollständig zu unterbinden, wurde in weiteren Studien eingehend untersucht. Mit Hilfe eines SAM-Systems mit konstanter Anzahl der Ethylenglykol-Kettenlänge, das heißt einem gleichbleibenden Hydratationsgrad, wurden lediglich die Endgruppe und damit die Benetzbarkeit variiert. Es konnte gezeigt werden, dass die Proteinresistenz mit steigendem Kontaktwinkel abnahm [58]. Ein analoges Verhalten wurde bei der Besiedlung von Ulva Sporen und Navicula beobachtet [86]. Zur „vollständigen" Resistenz muss eine Oberfläche also augenscheinlich sowohl über „interne" Hydrophilie in Form einer starken Hydratation und „externer" Hydrophilie durch eine hohe freie Oberflächenenergie verfügen.

Auch bei anderen Substanzklassen scheint die Hydratation der entscheidende Faktor für Proteinresistenzen zu sein. Saccharidbasierte Substanzen sind durch die Vielzahl der Wasserstoffbrücken stark hydratisiert und weisen ebenfalls gute Resistenzeigenschaften auf. Dabei hängt die genaue Stärke der Wechselwirkungen mit Wasser stark von der exakten Struktur der einzelnen Saccharidbausteine und deren Anordnung auf der Oberfläche ab [87] [88].

Starke Hydratation kann nicht nur durch Wasserstoffbrücken hervorgerufen werden, sondern auch durch elektrostatische Wechselwirkungen. Dies ist in der Regel bei zwitterionischen Verbindungen der Fall [89] [90]. Durch theoretische Berechnungen wurde belegt, dass die Hydratationsenergie zwitterionischer Moleküle sogar deutlich höher ist als bei vergleichbaren Oligo(ethylenglykolen) [91].

2.7.3 Ladung

Dass sich elektrische Neutralität positiv auf die Biokompabilität ausübt, wurde in den Design-Regeln für inerte Oberflächen von der Whitesides-Gruppe schon festgehalten. Dies konnte ebenfalls für Proteinresistenzen bestätigt werden. Hierbei wurden verschiedene Testproteine auf Polymeroberflächen mit einem Ladungsgradienten gegeben. In der Zone elektrischer Neutralität war die Proteinadhäsion immer am geringsten [92]. Arbeiten, die auf SAMs basierten, bestätigten ebenfalls, dass bei zwitterionischen Oberflächen, bei denen gleichzeitig positive und negative Ladungsträger ausgeglichen vorliegen, die Proteinresistenz maximiert wurde [93].

Aufgrund der sie umgebenden Extrazellulären polymeren Substanzen weisen die meisten Organismen in ihrem physiologischen Bereich eine negative Nettoladung auf [94]. Deshalb sind elektrostatische Wechselwirkungen zwischen solchen Organismen und einer geladenen Oberfläche naheliegend. In wässrigen Umgebungen, die eine hohe Salinität aufweisen, haben solche Wechselwirkungen allerdings nur eine kurze Reichweite [95].

Die meisten Organismen weisen durch das EPS ein negatives Zetapotential auf, welches ebenfalls auf die dominierende Rolle elektrostatischer Wechselwirkungen hinweist [96]. So konnte für viele Organismen ein besiedlungsfördernder Einfluss auf kationischen Peptid-SAMs belegt werden. Passend dazu wurde ein besiedlungsreduzierender Einfluss negativer SAMs bei *U. linza* beobachtet [95]. Allerdings gibt es auch einige wenige Studien, die Gegenteiliges herausgefunden haben. So spielt die potentielle biologische Aktivität der Substanzklasse anscheinend auch eine Rolle. Auf einer Serie von Peptiden mit zunehmendem Anteil an positivem Arginin nahm zum Beispiel auch die Besiedlungsdichte immer mehr zu [97]. Cypris-larven von *B. amphitrite* hingegen besiedeln wieder bevorzugt SAMs mit negativer Terminierung [98].

2.7.4 Topographie

Die „Angriffspunkt-Theorie“ (engl. „attachment-point theory“) besagt, dass die Anzahl möglicher Anhaftungspunkte, die den Mikroorganismen einer Topographie zur Verfügung stehen, entscheidend für deren Adhäsionswahrscheinlichkeit und -stärke ist [99] [100]. Glatte Oberflächen bieten durch die größere Kontaktfläche grundsätzlich andere Angriffspunkte als strukturierte (Abbildung 12). Morphologien, deren Dimensionen kleiner bzw. in der Größenordnung des entsprechenden Organismus sind (Abbildung 14 B+C), reduzieren mögliche Anhaftungsstellen. Größere Strukturen bieten sowohl mehr Anhaftungspunkte als auch mehr Schutz gegenüber den Einwirkungen von hydrodynamischen Kräften (Abbildung 14 D).

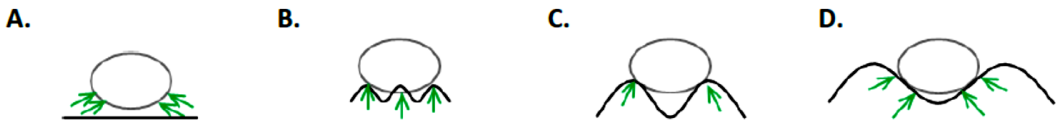


Abbildung 12: Angriffspunkt-Theorie für Oberflächen mit zunehmender Strukturgröße A. Organismus auf einer glatten Oberfläche B. + C. Strukturen, die kleiner als der Organismus sind. D. Organismus in einer Struktur idealer Größe mit mehreren Angriffspunkten. Abbildung angelehnt an Scardino et al., Biofouling 2006 [100].

Das bedeutet, dass die Adhäsion durch verschiedene Strukturdimensionen und der Größe der Organismen gefördert oder erschwert werden kann. Als Maßstab wird meist empfohlen, dass solche Dimensionen zur Adhäsionsprävention am effektivsten sind, die 50 - 90 % der Organismengröße entsprechen [101]. Anhand des Adhäsionsverhaltens von Kieselalgen verschiedener Größe auf mikrostrukturierten Polyimid-Oberflächen, welche von einer gewellten Muschelstruktur inspiriert wurden, verifizierten Studien von Scardino et. al. diese Theorie [100]. Durch Hügelabstände die etwas kleiner waren als die Zelle groß war, konnte die Besiedlung stark reduziert werden [102] [103].

Hierarchisch aufgebaute Strukturen sind auf der Topographie-Seite demnach der beste Ansatz um eine universelle Lösung für bewucherungsresistente Oberflächen zu erhalten [64]. Die am Biofouling-Prozess beteiligten Organismen umspannen Größenordnungen von wenigen hundert Nanometern (z.B. Bakterien) bis zu einigen hundert Mikrometern (z.B. Seepockenlarven) [104].

2.7.5 Potentiell inerter Substanzklassen

Poly(ethylenglykol) (PEG)

Schon seit den frühen 80er Jahren wurden Polyethylenglykole (PEG, Abbildung 13) genutzt um die Adsorption von Proteinen und Zellen an Oberflächen zu minimieren. Zum Beispiel wird es im biomedizinischen Bereich deshalb u. a. als Beschichtung von Implantaten verwendet [105] [106] [107].

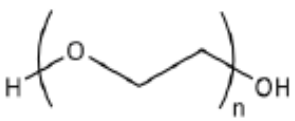


Abbildung 13: Grundbaustein von PEGs

PEGs sind toxikologisch unbedenklich, wasserlöslich und in vielen Variationen erhältlich (unterschiedliche Molmassen) [105]. Die ausgeprägte Wechselwirkung von PEGs mit Wasser spielt dabei eine wichtige Rolle und wird vor allem im Vergleich mit dem nah verwandten Polyetherhomologen wie Polypropylenglykol deutlich, welches wesentlich schlechter wasserlöslich ist [108]. Die Fähigkeit zur Hydratisierung der PEGs ist wie in Kapitel 2.7.2 beschrieben, der Grund für die ausgeprägte Resistenz gegenüber einer Vielzahl von Makromolekülen und Organismen. Ein Verdrängen der gebundenen Wasserschicht durch potentielle Adhäsive wird durch die hohe Hydratationsenergie der Wasserschicht unmöglich. Zudem kommt bei hochmolekularen, oberflächengebundenen PEGs noch ein entropischer Faktor hinzu, dadurch dass ein Verlust der sterischen Freiheiten der Polymerketten bei einer solchen Adsorption zusätzlich zur unvorteilhaften Energiebilanz dieses Prozesses beiträgt [109].

Die Anwendungsgrenzen von Ethylenglykol-Oberflächen liegen allerdings in der chemischen Stabilität. Die Ethylenglykol-Einheiten sind in Anwesenheit von Sauerstoff und Übergangsmetallionen oxidationsempfindlich [3] [4] [110] [111]. Dadurch verringert sich mit der Zeit die Anzahl der Ethylenglykol-Einheiten an der Oberfläche und die proteophobe Eigenschaft geht verloren. Vor allem wegen der intrinsischen Oxidationsempfindlichkeit war das Interesse groß weitere Substanzklassen zu identifizieren, welche vergleichbare Eigenschaften besitzen. Als gute Alternative stellten sich dabei zwitterionische Substanzen heraus [68] [112] [113].

Zwitterionische Polymere

Zwitterionische Substanzen zeichnen sich durch funktionelle Gruppen aus, die sowohl einen positiven als auch einen negativen Ladungsträger aufweisen [114]. Beispiele sind Phosphorcholine (PC) oder Carboxy- (CB) und Sulfobetaine (SB) (vgl. Abbildung 14). Phosphorylcholine befinden sich auf der äußeren Zellmembran und werden für deren nicht-thrombogene Eigenschaften verantwortlich gemacht [115]. Des weiteren werden PC-modifizierte Polymere entwickelt, die sich durch hohe Proteinresistenz auszeichnen und unter anderem Anwendung im medizinischen Bereich als Implantatbeschichtungen finden [116] [117].

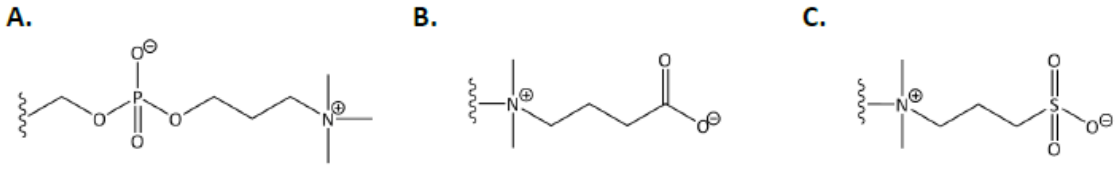


Abbildung 14: Strukturen von Phosphorcholinen (A), Carboxybetainen (B) und Sulfobetainen (C)

Im Vergleich zu PC-Polymeren lassen sich Carboxy- oder auch Sulfobetainpolymere einfacher synthetisieren und sind zudem leichter in der Handhabung und auch stabiler [118]. Die Anwendungsstudien von Carboxy- und Sulfobetainen reichen von Protein- und Plasmaresistenztests [119] über Bakterienstudien [120], biomedizinische Anwendungen [121] bis zu einer Reihe von Experimenten mit marinen Biofoulern [117] [122] [123].

Genau wie bei PEG-basierten Beschichtungen wird die hohe Proteinresistenz auf ihre ausgeprägte Eigenschaft der Hydratisierung zurückgeführt. Anders als bei den EPGs wurden jedoch nicht die Wasserstoffbrückenbindungen als Ursache für die Anlagerung der Wassermoleküle identifiziert, sondern elektrostatische Wechselwirkungen [124] [125] [126] [127].

3 Methoden

3.1 Charakterisierung der synthetisierten Betaine und modifizierten Polyamine mittels ^{1}H- NMR

Für die NMR-Spektroskopie wurden zwischen 10 – 30 mg der getrockneten Probe abgewogen und mit 1 mL des entsprechenden deuterierten Lösemittels gelöst. Die vollständig gelöste Probe wurde in ein NMR-Röhrchen überführt (ca. 0.7 mL). Die Messungen wurden an der Universität Duisburg-Essen, Fachbereich Chemie an einem 300 MHz-NMR-Spektrometer der Firma Bruker durchgeführt.

3.1.1 Ermittlung des Substitutionsgrads DS von substituierten Polyaminen an Hand der 1H-NMR Spektren

Bei der Modifizierung eines Polyamins durch eine Reaktion der Aminogruppen mit einem Reagenz kann die Reaktion an einer, mehrerer oder allen Aminogruppen erfolgen. Dieser Anteil der Modifizierung wird durch den durchschnittlichen Substitutionsgrad DS quantifiziert:

DS = [Zahl der modifizierten Aminogruppen] / [Zahl aller Aminogruppen]

Die Zahl aller Aminogruppen entspricht normalerweise der tatsächlichen Zahl der Aminogruppen im Polymer, z. B. im Falle des Polyvinylamins, das jeweils eine primäre Aminogruppe pro Wiederholungseinheit [CH_2CH_2-NH_2] aufweist. Ein spezieller Fall stellen verzweigte Polymere wie das Polyethylenimin dar, in denen neben primäre auch sekundäre und tertiäre Amine vorliegen. Bei Modifizierungsreaktionen wie der hier vorliegenden Michael-Reaktion sind tertiäre Amine allerdings inert, d.h. ein Substitutionsgrad von 100% kann hier nicht erreicht werden, wenn dieser auf die Wiederholungseinheit [CH_2CH_2-NH_x] (mit x = 0, 1 oder 2) bezogen wird. Daher ist es hier sinnvoller, die Gesamtzahl der Aminogruppen mit der Zahl der tatsächlich zur Reaktion befähigten Gruppen gleichzusetzen, d.h. der Gesamtzahl der primären und sekundären Amine (Abbildung 17).

Die genaue Ermittlung des DS von substituierten Polyaminen kann in den meisten Fällen mittels NMR-Spektroskopie erfolgen. Voraussetzung hierfür ist, dass jeweils mindestens ein ^{1}H-NMR-Signal des Substituenten ausreichend separiert ist und die Signale des Polymerrückgrats nicht von anderen Signalen überlagert werden, da für die Berechnung

die Signalintensität dieser Gruppierungen herangezogen wird. Zu berücksichtigen ist hierbei, dass die Signale der Amin-Wasserstoffatome sich nicht für die folgende Berechnung eignen, da deren Intensität aufgrund verschiedener Phänomene nicht verlässlich mit der Anzahl korreliert. Daher werden nur die Signale für Wasserstoffatome berücksichtigt, die direkt an Kohlenstoffatome gebunden sind, d.h. die Methylengruppen (CH_2) und Methingruppen (CH).

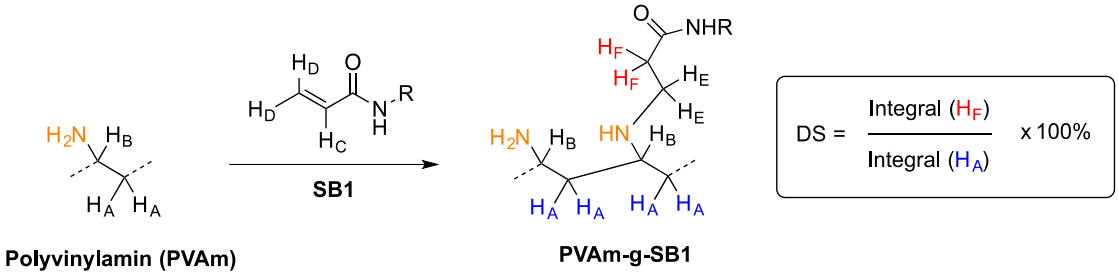


Abbildung 15: Darstellung der Berechnung des DS bei PVAm

Im Falle des Polyvinylamins ist die Berechnung von DS unkompliziert, da PVAm eine strukturell einfache Wiederholungseinheit aufweist. Dies wird am Beispiel der Umsetzung von PVAm mit dem Acrylat SB1 und den entsprechenden ^{1}H-NMR-Spektren der beiden Reaktanden sowie des Produkts PVAm-g-SB1 (Abbildung 16) deutlich. PVAm weist zwei unterschiedliche Protonen auf: die zwei Protonen H_A der Methylengruppe (chemische Verschiebung δ = 1.5–2 ppm) und das Proton H_B der Methingruppe direkt benachbart zur Aminogruppe (chemische Verschiebung δ = 3.5–4 ppm, Doppelpeak aufgrund teilweiser Protonierung der Aminogruppe). Die Intensitäten der beiden Signale entsprechen der Zahl der H-Atome, d.h. es liegt ein Verhältnis von 2:1 vor. Das Acrylat SB1 weist neben den hier nicht weiter beschriebenen Seitenkettensignalen die Signale für die Protonen der Doppelbindung (H_C und H_D) auf. Da die Doppelbindung durch die Addition der Aminogruppe in eine Einfachbindung umgewandelt wird, sind diese Signale im Produkt PVAm-g-SB1 nicht mehr vorhanden. Stattdessen erscheinen hier zwei neue Signale H_E und H_F die den beiden Methylengruppen zwischen der Aminogruppe und dem Amid in der Seitenkette entsprechen. Da die Signale für H_B (PVAm-Teil) und H_E (Seitenkette) teilweise überlagert sind, werden für die Berechnung vom DS die Integrale der Signale für H_A (PVAm-Teil) und H_F (Seitenkette) verwendet.

Beide Signale entsprechen jeweils zwei H-Atomen, sodass das Verhältnis der beiden Signalintensitäten den Anteil der substituierten Aminogruppen angibt. Bei einem DS von 100%, d.h. wenn jede Aminogruppe substituiert ist, ist im Polymer die Zahl der

Methylengruppen CH_{F2} und die Zahl der Methylengruppen CH_{A2} gleich, d.h. beide Signalintensitäten sind gleich. Bei der in Abbildung 16 gezeigten Struktur liegt ein DS von ca. 50% vor. Das Polymer enthält pro Methylengruppe CH_{F2} jeweils zwei Methylengruppen CH_{A2} (jeweils eine unsubstituierte und eine substituierte), sodass das Integral CH_{F2} nur halb so groß wie das Integral CH_{A2} ist.

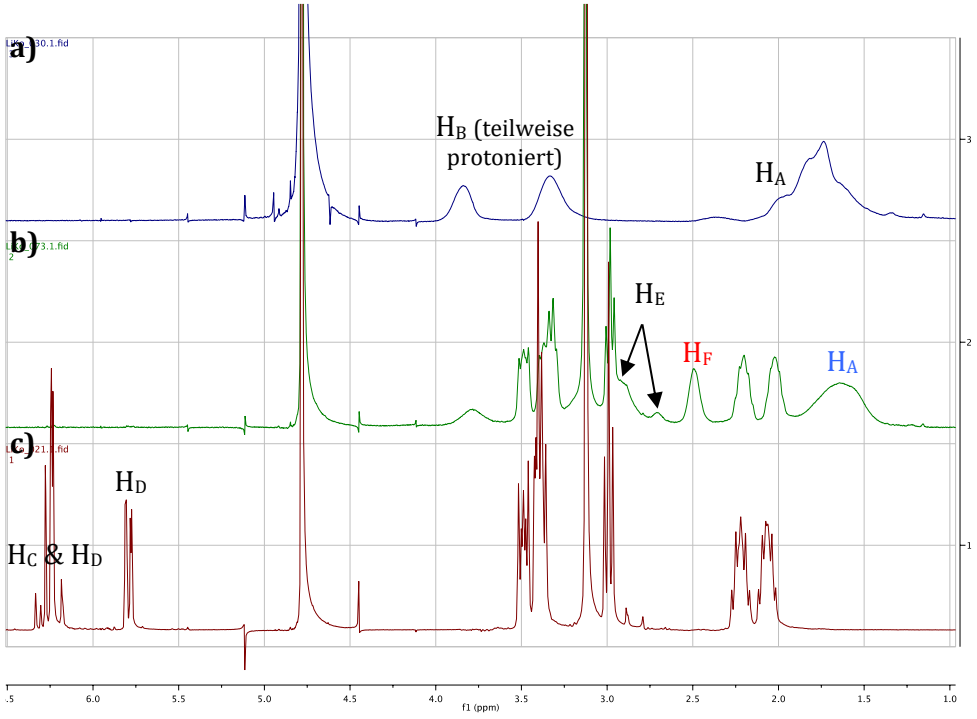


Abbildung 16. ^{1}H-NMR-Spektren von PVAm (blau), dem eingesetzten SB1 (rot) und dem Produkt PVAm-g-SB1 (grün). Die ^{1}H-NMR-Spektren wurden in D_2O aufgenommen.

Im Falle des hier verwendeten verzweigten Polyethylenimins wird die Berechnung von DS etwas komplizierter, wenn der Substitutionsgrad nur auf tatsächlich funktionalisierbare Aminogruppen (hier: primäre und sekundäre) bezogen werden soll. Hierzu muss die Art der Verzweigung bzw. das Verhältnis der primären/sekundären/tertiären Amine in der Wiederholungseinheit bekannt sein und berücksichtigt werden. Im hier verwendeten PEIm liegt die in Abbildung 17 gezeigte Wiederholungseinheit vor, in der von den insgesamt 11 Aminogruppen nur 7 durch eine Michael-Reaktion chemisch modifizierbar sind (orange). Dementsprechend bezieht sich der maximale Substitutionsgrad von 100% auch nur auf diese 7 primären und sekundären Aminogruppen.

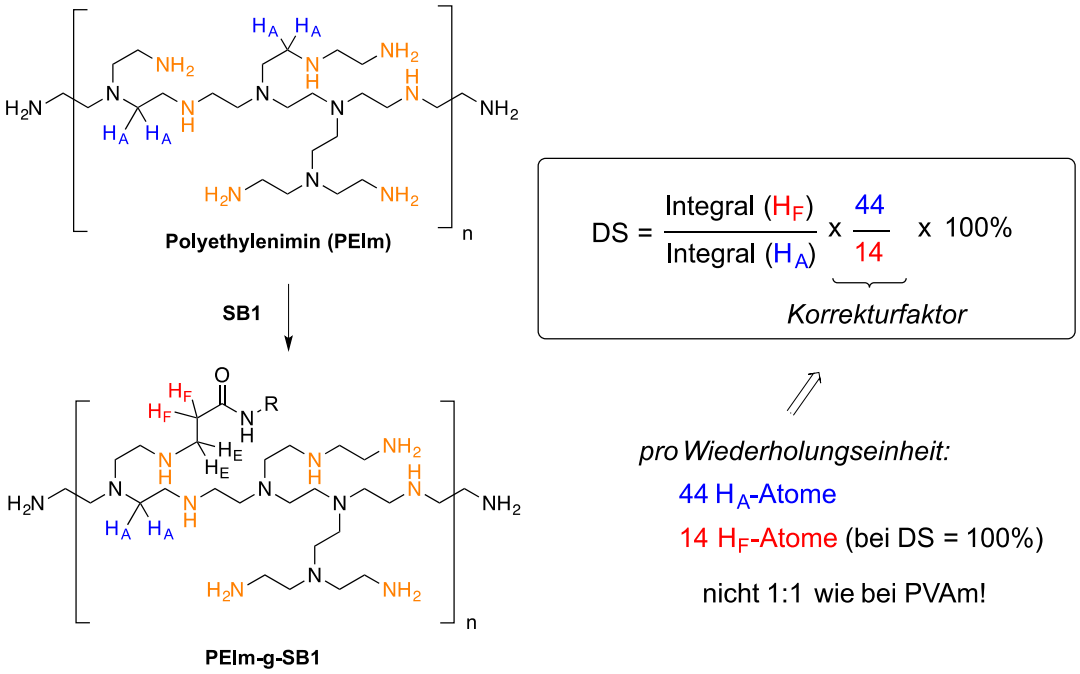


Abbildung 17: Darstellung der Berechnung des DS bei PEIm

Weiterhin ist bei der Berechnung von DS über die Signalintensitäten des 1H-NMR-Spektrums zu beachten, dass im PEIm alle H-Atome der Methylengruppen eine gleiche chemische Verschiebung (H_A = 2.5–3 ppm) aufweisen (vgl. Sektrum in Abbildung 18). Somit entspricht dieses Signal H_A insgesamt 44 H-Atomen pro Wiederholungseinheit. Für die neu entstandene Ethylengruppe ist eines der beiden neuen Signale (H_E) erneut überlagert, sodass auch hier das Signal für H_F zur Berechnung von DS verwendet wird. Da bei einer maximalen Substitution (DS = 100 %) nur 14 H_F-Atome gegenüber 44 H_A-Atomen in der Wiederholungseinheit vorhanden sind, muss für die Berechnung von DS aus dem Verhältnis der Signalintensitäten noch ein Korrekturfaktor verwendet werden, der dem Quotienten 44/14 entspricht und das Signalverhältnis auf 1 normiert.

Werden Methacrylate für die Michael Addition eingesetzt ist nach der Reaktion das Signal für H_F nicht vorhanden, da an diesem Kohlenstoffatom eine Methylgruppe und ein einzelnes H-Atom vorhanden sind und nicht zwei H-Atome. Das neue Signal für das einzelne H-Atom weist eine andere chemische Verschiebung auf, als die zwei H-Atome bei Acrylaten. Dadurch entsteht dann ebenfalls ein isolierter Peak, der für die Bestimmung von DS herangezogen werden kann.

Der Substitutionsgrad DS beschreibt den Anteil der primären und sekundären Aminogruppen (orange), die mit dem (Meth-)Acrylat reagiert haben. Im gezeigten Fall ist eine von sieben möglichen Gruppen pro Wiederholungseinheit substituiert, d.h. DS = 14%. Für DS <14% gilt, dass nicht jede Wiederholungseinheit einen Rest trägt.

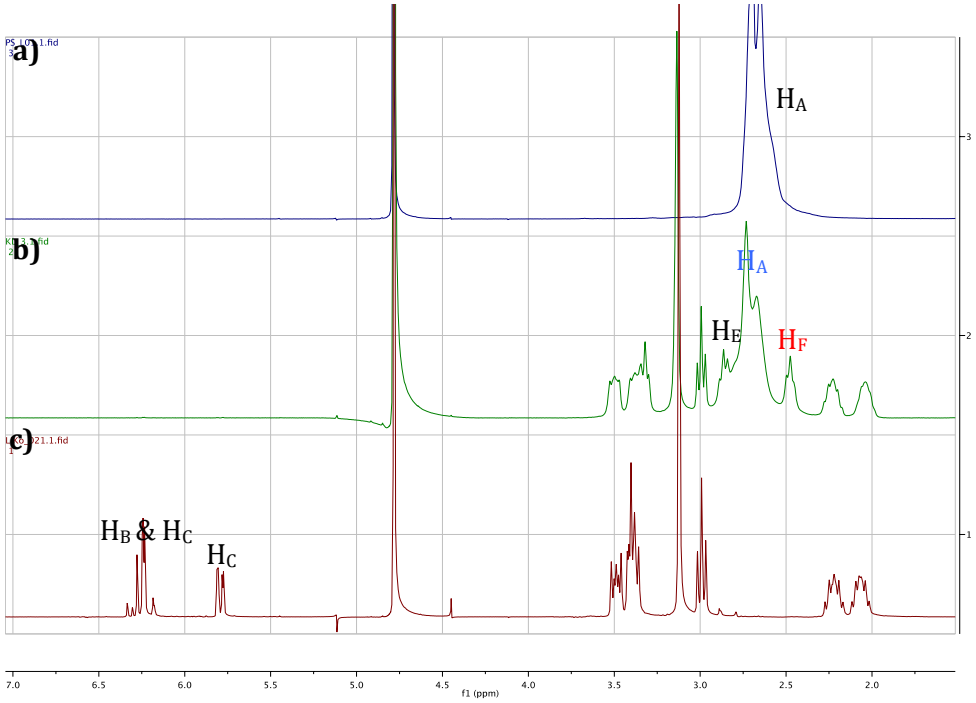


Abbildung 18. ^{1}H-NMR-Spektren von PEIm (blau), dem eingesetzten SB1 (rot) und dem Produkt PEIm-g-SB1 (grün). Die ^{1}H-NMR-Spektren wurden in D_2O aufgenommen.

3.2 Ausrüstung der Textilien

3.2.1 Vorbehandlung der Textilien

Extraktion

Sowohl die BW Gewebe als auch die PET Gewebe wurden mittels einer Soxhlet Apparatur erst 8h in Petrolether 40-60°C und danach 8h mit einem Ethanol-Wassergemisch (1:1) extrahiert. Durch die Extraktion sollen Verunreinigungen und Schlichte entfernt werden.

PET Aktivierung

Um für die Ausrüstung mit PVAm eine reaktivere Oberfläche zu generieren kann PET mittels verschiedener Methoden aktiviert werden, so dass im Besten Fall, durch eine erhöhte Anzahl reaktiver Gruppen auf der Oberfläche, eine bessere und gleichmäßigere Ausrüstung zustande kommt. Hier wurden die Möglichkeiten einer Koronabehandlung und der UV-Bestrahlung gewählt. Beides sind in der Textilindustrie gängige Methoden. PET ist durch den chemischen Aufbau sehr unpolar und damit wasserabweisend. Die Benetzbarkeit von PET in wässrigen Lösungen ist deshalb ungenügend.

1.) Funkenstrahlplasmabehandlung

Im Allgemeinen beschreibt die Kaltplasmabehandlung ein elektrochemisches Verfahren zur Oberflächenmodifikation von Kunststoffen und somit auch von Textilien [128].

Das Textil wird dabei einer Hochspannungs-Entladung ausgesetzt bei der Oxidationsprozesse an der Materialoberfläche stattfinden, durch die verschiedene polare Funktionelle Gruppen (z. B. Alkohole, Aldehyde, Carbonsäuren, Ester, Ether, Peroxide) eingeführt werden. Die elektrische Entladung führt zu einer Ionisierung der Luft, was zur lokalen Bildung von Ozon führt. Das Ozon kann auf der Textiloberfläche ebenfalls oxidativ wirken.

Die Plasmaeinheit wird in einem Abstand von 10 cm mit einer Geschwindigkeit von etwa 4 cm/s 6x über das Textil geführt. Es werden sowohl die Vorder- als auch die Rückseite behandelt. Die Arbeiten sind unter einer Abzugseinheit durchzuführen, damit das entstandene Ozon abgesagt werden kann.

Die behandelten Proben sollten relativ zeitnah (binnen 2 Stunden) für die weitere Ausrüstung benutzt werden.

2.) UV-Vorbehandlung

UV-Photonen sind auf Grund ihrer hohen Energie in der Lage chemische Bindungen, zum Beispiel im molekularen Netzwerk der Textilien aufzubrechen. Die geöffneten Bindungsstellen der Molekülketten sind bestrebt schnell wieder einen Zustand einzunehmen, der chemisch stabil ist. Hierbei dient der Sauerstoff aus der Atmosphäre als Reaktionspartner. So lässt sich die Bildung von Hydroxl-, Carbonyl- und oder Carboxylgruppen auf der Oberfläche nachweisen, welche für eine polarere Oberfläche sorgen.

Die Gewebestücke wurden unter einer UV-Breitbandlampe (umgelenkt) für 10 Minuten bestrahlt. Durch die Bestrahlung wird das PET aktiviert und die behandelten Proben sollten relativ zeitnah (binnen 2 Stunden) für die weitere Ausrüstung benutzt werden.

BW Vorbehandlung

Um Baumwolle mit Polyamin oder modifizierten Polyaminen auszurüsten, bedarf es einer Vorbehandlung mit Cyanurchlorid. Cyanurchlorid dient hierbei als Anker („Crosslinker“) zwischen dem Baumwollgewebe und dem Polymer. Dazu wurden die Gewebestücke für 5 min in eine Cyanurchloridlösung getaucht (1 g/L, in Aceton) und anschließend im Abzug getrocknet.

Die Ausrüstung von Baumwollgewebe sollte unmittelbar nach der Vorbehandlung stattfinden.

3.2.2 Ausrüstung von Polyestergewebe mit (modifizierten) Polyaminen

Die Ausrüstung von Polyestergewebe erfolgte im Labormaßstab mittels eines Tauch-Trocknungs-Fixier-Prozesses („pad-dry-cure“-Prozess). Die Gewebestücke (DIN A4) wurden hierzu in eine wässrige Lösung des (modifizierten) Polyamins (1 Gew.-%) getaucht und 1 Minute konditioniert. Anschließend wurden die Gewebestücke mit einem Foulard abgequetscht, sodass die Flottenaufnahme ca. 100% betrug. Anschließend wurde das Gewebe bei 80°C vorgetrocknet und dann in einem Labdryer im Spannrahmen fixiert (8 min bei 150 °C). Danach wurden die Gewebestücke jeweils 5 min mit Leitungswasser und 5 min mit dest. Wasser ausgespült, um überschüssiges Polymer zu entfernen. Die gewaschenen Gewebestücke werden bei Raumtemperatur getrocknet.

3.2.3 Oberflächenreaktionen

Hierbei erfolgte die Primärausrüstung von BW und PET mit PVAm wie in Kapitel 3.2.2 & 3.2.4 beschrieben. Die Sekundärausrüstung erfolgte dann mit einer Acrylat-Monomerlösung (z.B. SB1, SB2, oder auch ein Acrylat mit quartärem Amin bzw. ein sulfonhaltiges Acrylat).

Durch die Primärausrüstung wurde eine hohe Anzahl an Oberflächenaminogruppen generiert. Diese Aminogruppen konnten im zweiten Ausrüstungsschritt (Fixiertemperatur 150°C) mit dem Reaktiv-Monomer reagieren.

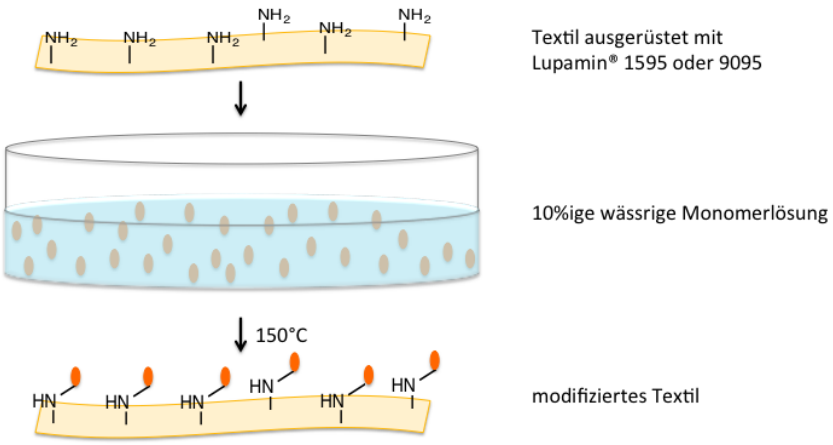


Abbildung 19: Schematische Darstellung der Oberflächenreaktion von Lupamin®-modifizierten Textilien mit reaktiven Monomeren.

3.2.4 Ausrüstung von Baumwollgewebe mit (modifizierten) Polyvinylaminen

Die Ausrüstung von BW Gewebe erfolgte analog zu der Ausrüstung von PET Gewebe (vgl. Kapitel 3.2.2).

3.3 Charakterisierung der ausgerüsteten Textilien

3.3.1 Gravimetrische Bestimmung der Beladung

Zur Bestimmung der Beladung wurde das Gewicht von Gewebestücken vor und nach dem Ausrüstungsschritt bestimmt. Die Gewebestücke wurden unter Laborklima equilibriert und alle Experimente in dreifacher Wiederholung ausgeführt. Die relative Gewichtszunahme wurde nach folgender Gleichung berechnet, wobei m_1 und m_2 den Gewichten der Gewebestücke vor und nach der Ausrüstung entsprechen:

$$\text{relative Gewichtszunahme (\%)} = \frac{m_2 - m_1}{m_1} \times 100$$

3.3.2 IR Spektroskopie

Die infrarotspektroskopischen Messungen wurden mit einem FT Infrarotspektrometer IR Prestige 21 der Fa. Shimadzu durchgeführt. Zur oberflächensensitiven Untersuchung von Gewebeproben diente zusätzlich eine horizontale ATR-Einheit (Silver Gate, Fa. Specac). Diese Technik erlaubt die Oberflächenuntersuchung von undurchsichtigen Stoffen ohne einen KBr-Pressling herstellen zu müssen. Hierbei wird von dem Gewebe die Intensität des reflektierten Lichts gemessen.

3.3.3 Bestimmung der freien Aminogruppen des ausgerüsteten Gewebes mittels TNBS-Färbung

Der Farbstoff Trinitrobenzolsulfonsäure (TNBS) reagiert mit den freien NH_2-Gruppen des ausgerüsteten Gewebes zu einem stabilen, farbigen Trinitrobenzolderivat.

Die textilen Proben wurden hierzu einzeln in einer kleinen Petrischale in eine wässrige 2,4,6-Trinitrobenzolsulfonsäure-Lösung (0.1 Gew.%) eingelegt und für 5 min im Trockenschrank bei 80 °C inkubiert. Anschließend wurden die Proben für 5 min unter fließendem Wasser ausgewaschen und dann luftgetrocknet. Die Färbung der Proben wurde visuell begutachtet und mittels Fotographie festgehalten.

3.3.4 Bestimmung der Carboxylgruppen auf PET

Der Nachweis und die Quantifizierung von Carboxylgruppen erfolgt durch Anfärben mit dem kationaktiven Farbstoff Methylenblau. Dabei werden die Proben mit einer 0,05%igen Methylenblaulösung (gelöst in Britton-Robinson Puffer pH 7,1-7,4) angefärbt und 10 Minuten bei RT gerührt. Die Proben werden mit so viel Wasser gespült, bis das Waschwasser klar ist. Nach dem trocknen können die Proben schon einmal visuell betrachtet werden.

Nach Anfärben der Probe kann der kationische Farbstoff wieder durch Säurebehandlung abgezogen werden. Dazu müssen die Proben erst gewogen werden bevor sie jeweils mit 20 mL einer 84%igen Essigsäure versetzt werden. Es wird solange gerührt bis die Proben vollständig entfärbt sind (mind. 1 h). Aus der erhaltenen Farbstofflösung kann dann photometrisch bei 650 nm eine Quantifizierung der ursprünglich gebundenen Farbstoffmenge und damit der ursprünglich vorhandenen Carboxylgruppen durchgeführt werden.

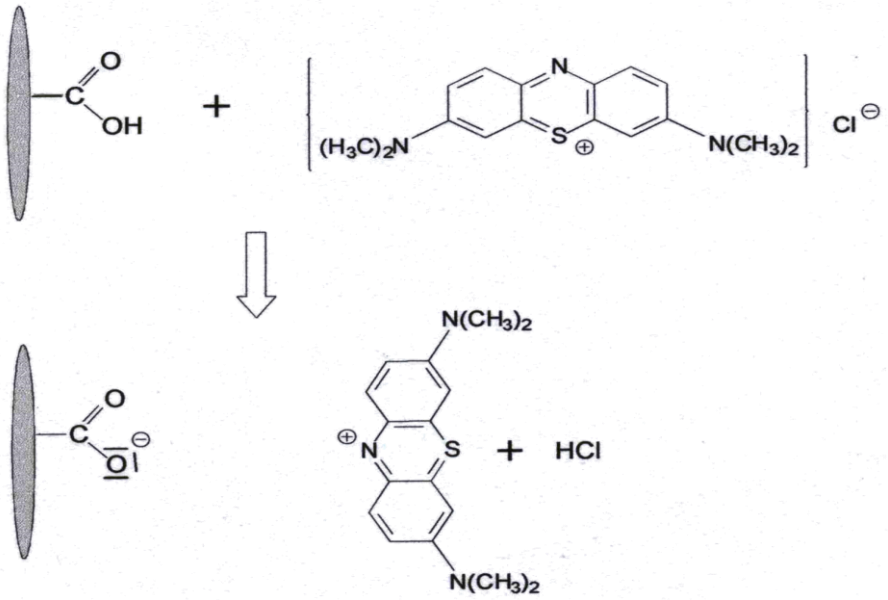


Abbildung 20: Reaktion von Methylenblau mit endständigen Carboxylgruppen des PET

3.3.5 Digitalmikroskopische Aufnahmen

Mit einem KEYENCE Lichtmikroskop wurden digitalmikroskopische Aufnahmen der unbehandelten und der ausgerüsteten Textilien gemacht.

3.3.6 REM-EDX

Die rasterelektronmikroskopischen Aufnahmen (REM) wurden am Deutschen Textilforschungszentrum Nord-West gGmbH in Krefeld mit einem Rasterelektronenmikroskop S-3400N II der Firma Hitachi High-Technologies Europe GmbH erstellt. Zur Probenpräparation wurden die Oberflächen der Proben 4 Minuten im Vakuum mit Gold besputtert. Verwendet wurde ein Quorum Emitech K5000X-Sputterbeschichter.

3.3.7 Induktiv gekoppelte Plasma-Emissionsspektroskopie (ICP-OES)

Um ICP-OES Messungen der Textilien machen zu können, müssen die Textilien erst mittels eines Mikrowellenaufschlusses (in Anlehnung an DIN EN 3346) aufgeschlossen werden. Der Mikrowellenaufschluss erfolgte bei 190°C mit dem MarsXPress der Firma CEM. Gemessen wurden die Proben mit einem Varian 720-ES ICP Optical-Emission Spektrometer (Inductively Coupled Plasma) bei der DTNW ÖP.

3.4 Methoden zur Prüfung der Eigenschaften der generierten Oberfläche

3.4.1 Bestimmung der Proteinadhäsion

Aus den einzelnen Gewebestücke wurden runde Proben ausgestanzt (d = 15 mm). Die runden Gewebestücke wurden in eine Lipaselösung (Type VII aus *Candida cylindracea*, 1g/L in 100 mM Phosphatpuffer pH = 7.2) gehängt und 30 min auf einem Schüttler bei 100 rpm gestellt. Anschließend wurden die Proben 5 min auf dem Schüttler in dest. Wasser gewaschen, um leicht anhaftende Lipase zu entfernen. Für die Bestimmung der Menge der anhaftenden Lipase wurden die Proben erst angetrocknet (nicht bis zur vollständigen Trockenheit!) und dann einzeln in kleine Eppendorf-Gefäße überführt. Es wurden 500 µL Phosphatpuffer und 50 µL Fluoresceindiacetat-Lösung (FDA, 2 mg/mL in DMSO) hinzupipettiert. Die auf den Textilien adsorbierte Lipase spaltet das FDA zu gelb-grün fluoreszierendem Fluorescein, welches anschließend spektroskopisch detektiert werden kann. Nach einer definierten Zeit (10 sec), die die Proben auf dem Vortex-Schüttler geschüttelt wurden, wurden 50 µL Reaktionslösung aus dem Eppendorf-Gefäß entnommen und in eine Kavität einer 96-Well-Mikrotiterplatte

pipettiert. Die Fluoreszenz wurde mit Hilfe eines Plattenreaders gemessen. Dazu wurde ein Absorptionsfilter von 485 nm und ein Emissionsfilter von 535 nm eingesetzt.

Optimierung:

Die ausgestanzten Gewebestücke (d=15mm) wurden in eine Lipaselösung (Type VII aus *Candida rugosa*, 1g/L in 100 mM Phosphatpuffer pH = 7.2) gehängt und 30 min auf einem Schüttler bei 50 rpm gestellt. Anschließend wurden die Proben 5 min auf dem Schüttler in dest. Wasser gewaschen, um leicht anhaftende Lipase zu entfernen. Für die Bestimmung der Menge der anhaftenden Lipase wurden die Proben erst angetrocknet und dann je in ein Well einer 24-Well Platte überführt. In jedes Well wird 500 µL Phosphatpuffer pipettiert. Anschließend wird die Platte in einem TECAN Plattenreader mit Injektionseinheit gestellt. In jedes Well werden automatisiert 50 µL FDA (2 mg/mL in DMF) pipettiert. Anschließend wird 15 sec geschüttelt und danach die Fluoreszenzintensität (Absorption 485 nm; Emission 535 nm) gemessen.

3.4.2 Lebend-Tot-Färbung

Für die Lebend-Tot-Färbung wurde eine *E. coli*-Kultur in LB-Medium angezüchtet. Dazu wurde eine Kolonie von einer Agarplatte gepickt und in LB-Medium gelöst. Die Anzucht fand über Nacht im Schüttler bei 37 °C und 200 rpm statt. Anschließend wurden die zu testenden Textilien (d = 15 mm) in die Bakterienlösung gehangen und 30 min auf einem Kreisschüttler bei 100 rpm geschüttelt. Nach der Inkubation wurden die Textilien aus der Bakterienlösung herausgeholt, kurz abgewaschen und in ein Eppendorf-Gefäß, welches ein Gemisch aus 300 µL Propidiumiodid und 300 µL Syber-Green enthielt, überführt und für mind. 5 min stehen gelassen. Anschließend wurde das Gewebe auf einen Objektträger gelegt und mit einem Deckgläschen zugedeckt. Die Probe wurde unter dem Fluoreszenzmikroskop untersucht.

3.4.3 Bakterielle Adhäsion

Für die bakterielle Adhäsion wurde sowohl eine *B. subtilis* und *E. coli*-Kultur in LB-Medium angezüchtet. Dazu wurde jeweils eine Kolonie von einer Agarplatte gepickt und in LB-Medium gelöst. Die Anzucht fand über Nacht im Schüttler bei 37 °C und 200 rpm statt. Anschließend wurden die zu testenden Textilien (d = 15 mm) in ein Well einer

24 Well Platte gegeben und 24 h zusammen mit 1 mL Bakterienkultur inkubiert. Nach der Inkubation wurden die Proben 2x in PBS-Puffer (pH = 7,2) für 5 min gewaschen um überschüssiges Nährmedium zu entfernen. Anschließend wurden die Mikroorganismen 30 min mit einer 3%igen Glutaraldehyd-Lösung auf dem Textil fixiert. Nach einem weiteren Waschschritt mit dest. H_2O, um überschüssiges Glutardialdehyd zu entfernen, werden die Proben je 10 min in einer Serie von Ethanol-Lösungen dehydriert (30, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 100 % v/v). Die vollständige Trocknung der Proben erfolgte im Vakuumtrockenschrank. Die Proben wurden mit Gold besputtert und anschließend am Rasterelektronenmikroskop untersucht.

3.4.4 Bestimmung der antibakteriellen Eigenschaften

Untersuchung nach JIS L 1902:2008

Die Untersuchung der antimikrobiellen Wirksamkeit von BW- und PET-Proben erfolgte nach JIS L 1902:2008. Die Messungen wurden im Universitätsklinikum Jena in der Klinik für Hautkrankheiten durchgeführt. Getestet wurde gegen *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

Untersuchungen mit selbst entwickelten Tests an der HSNR

1. Antibakterieller Test mit *E. coli pGLO*

Der *E. coli pGLO* wurde von der Kulturplatte in ein Reagenzglas mit 5 mL LB-Medium (Ampicillin- und Arabinose-Zusatz) überimpft und 24 h bei 37°C und 180 rpm inkubiert. Anschließend wurde die Kultur so stark verdünnt, dass die KBE bei ungefähr $10^{4\text{-}5}$ lagen. Die Textilstücke (d=15mm) wurden mit einer sterilen Pinzette in je ein Well einer 24 Well-Platte platziert. Es wurden erst 100 µL Medium hinzugegeben um das Textil vollständig zu benetzen und anschließend 100 µL verdünnte Vorkultur. Die Well-Platte wurde mit einer luftdurchlässigen Folie verschlossen und bei 37°C und 120 rpm für maximal 48h inkubiert. Die Fluoreszenzintensität wurde dann stündlich mit einem Plattenreader ausgelesen. Wurde länger als 24 h gemessen, wurden nach 24 h nochmals 100 µL Medium hinzugegeben um ein Austrocknen der Probe zu verhindern.

2. Antibakterieller Test mit *Aliivibrio fischeri (A. fischeri)*

Die Kultivierung erfolgte in Meerwasser-Flüssigmedium (bzw. auf Meerwasser-Agar-Platten) nach DSMZ Zusammensetzung (Medium 246). 10 mL des Nährmediums wurden mit *A, fischeri* beimpft und 48 h bei 17°C inkubiert. Die Lumineszenz von 100 µL Vorkultur wurde in einer 96-Well-Mikrotiterplatte gemessen und so stark mit Nährmedium verdünnt, dass die Lumineszenz bei ca. 100.000 lag. Die Textilstücke wurden in eine 24-Well Platte gelegt und mit 100 µL einer 2%igen NaCl-Lösung versehen. Dabei musste auf eine vollständige Benetzung geachtet werden. Anschließend wurden 100 µL der verdünnten Vorkultur hinzugegeben und es wurde die Lumineszenz über einen Zeitraum von 24h gemessen.

3.4.5 Bestimmung der zytotoxischen Wirkung mit dem Krefelder Ciliaten-Test[1]

Der Test beruht auf die kalorimetrische Messung von Ciliaten (*Tetrahymena pyriformis*). Bei der Stoffwechselaktivität der Ciliaten wird Wärme produziert. Die freiwerdende Wärmemenge kann mit Hilfe eines Kalorimeters gemessen werden. Dazu wurden 40 mL einer drei Tage alten Ciliaten-Kultur in ein Dewargefäß gegeben, fest verschlossen und die freiwerdende Wärmemenge 2 Stunden unter ständigem Rühren im Kalorimeter gemessen. Die Ausgangstemperatur aller Versuche betrug 25 °C. Durch die Rotation und die damit verbundene Reibung des Rührers entsteht zusätzliche Wärmeenergie. Dieser Nullwert muss von den eigentlichen Messdaten abgezogen werden und wird durch Messen von 40 mL des reinen Mediums über 2 Stunden bestimmt.

Mit Hilfe dieser Messungen können verschiedene Stoffe auf Ihre Toxizität hin überprüft werden. Bei Flüssigkeiten wurde 1 mL der Probe zu den 40 mL der drei Tage alten *T. pyriformis*-Kultur hinzugefügt. Bei einer Textilprobe wurde 1 g des Textils, welches vorher in einer Kugelmühle pulverisiert wurde, hinzugefügt.

3.4.6 Plattendiffusionstest

Um zu bestimmen ob das modifizierte Polymer wirklich kovalent auf der Textiloberfläche gebunden ist und es zu keinem leaching kommt, wurde ein Plattendiffusionstest, in Form eines Plättchentests, durchgeführt.

3.5 Textile Prüfungen

3.5.1 Bestimmung der Waschbeständigkeit

Waschbeständigkeit wurde nach DIN EN ISO 105-C06:1997 bestimmt (150 mL Waschlösung, Flottenverhältnis 1:30, ECE-Waschmittel 4 g/L, 30 min bei 40 °C, 10 Stahlkugeln).

3.5.2 Bestimmung des Weißgrads

Die Weißgrad (nach Berger) der einzelnen Gewebeproben wurde nach der CIE-Methode mit einem Spektralphotometer bestimmt. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus Zehnfachbestimmungen.

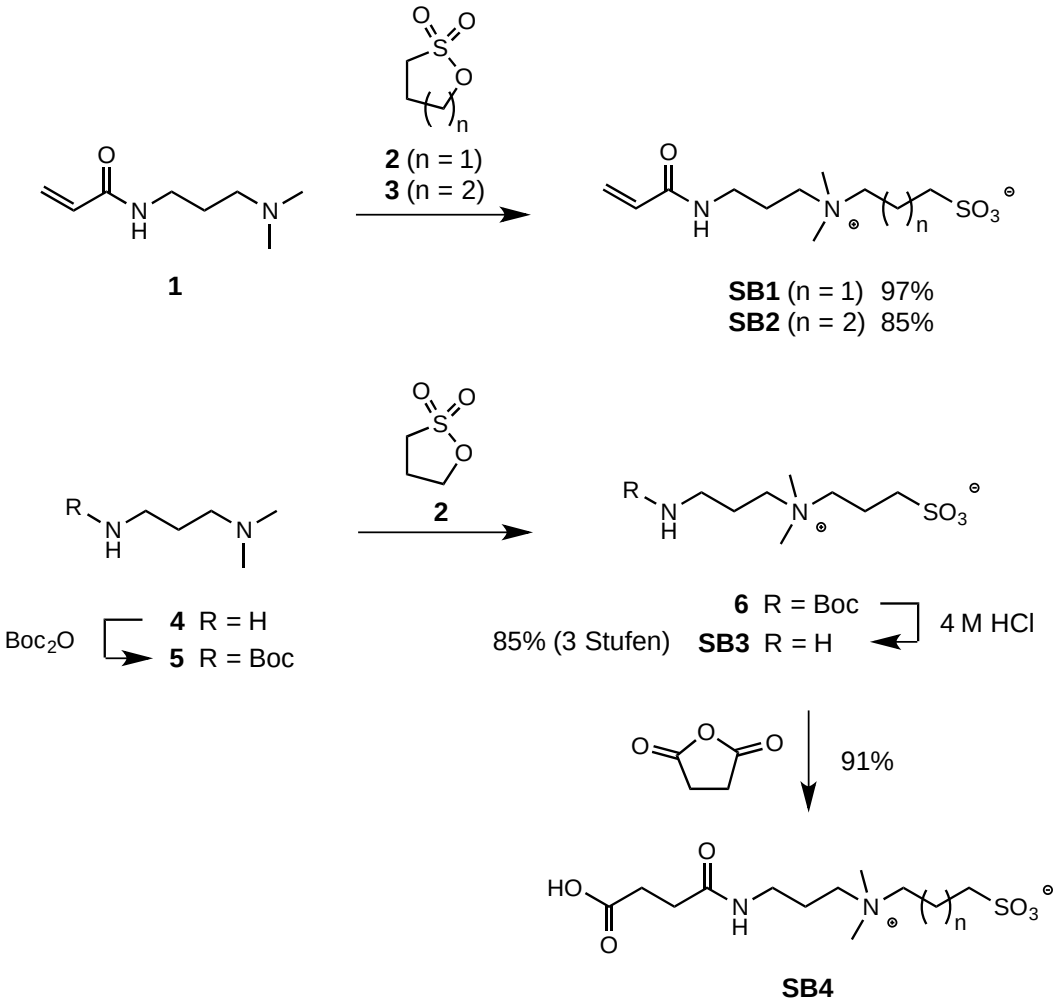
3.5.3 Abrasionstest mit dem Martindale

Die Scheuerbeständigkeit der ausgerüsteten PET Gewebe wurden in Anlehnung an die DIN EN ISO 12947-1:2007-04 (PET: 10000 Touren; 12kPa) getestet. Die Gewebe wurden danach unter dem Digitalmikroskop angeschaut um Unterschiede in der Scheuerbeständigkeit zwischen dem unbehandelten Gewebe und dem modifizierten zu erkennen.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Synthese und Charakterisierung von Betain-Synthesebausteinen

Für die Modifikation verschiedener Polyamine mit Sulfobetainen wurden insgesamt vier Synthesebausteine hergestellt, die sich entweder durch ihre Reaktivgruppe (Acrylat, Carbonsäure bzw. Aminogruppe) oder in der Struktur der Sulfobetaineinheit unterscheiden.

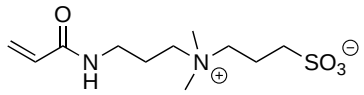
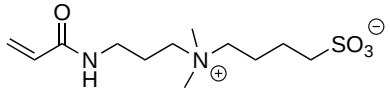
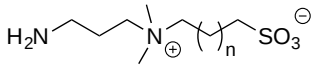
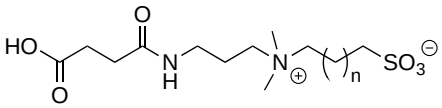


Schema 1. Synthese der Sulfobetaine SB1–4.

Die beiden Betaine SB1 und SB2 (Schema 1) enthalten beide eine Acrylatgruppe, die sich für eine Michael-Addition mit primären Aminen oder zur Polymerisation nutzen lässt,

weisen aber eine unterschiedliche Zahl an C-Atomen zwischen dem quartären Amin und der Sulfonsäuregruppe auf (3 bzw. 4). Die beiden Betaine wurden durch eine Addition der Dimethylamino-Gruppe des kommerziell erhältlichen Acrylats 1 an die entsprechenden 1,x-Sultone 2 und 3 (x = 3 oder 4) erhalten. Dabei konnten für diese Additionsreaktionen gute bis sehr gute Ausbeuten erreicht werden. Außerdem gestaltet sich die Aufarbeitung sehr einfach, da das Produkt aus dem Reaktionsgemisch als Feststoff ausfällt und lediglich abgesaugt und gewaschen werden muss. Daher sollten sich diese Reaktionen sehr einfach in einen größeren Maßstab übertragen lassen.

Tabelle 4. Zusammenfassung der Synthesen der Sulfobetaine SB1–4.

Sulfo-betain	**Strukturformel**	**Synthese optimiert**	**Bemerkung**
SB1	 **SB1**	✓	einstufige Synthese, Ausbeuten von 97%
SB2	 **SB2**	✓	Einstufige Synthese, Ausbeuten von 85%
SB3	 **SB3**	✓	3-Stufen-Synthese, 85% Ausbeute
SB4	 **SB4**	✗	schwere Aufreinigung und keine Charakterisierung möglich

Die größten Ansätze die während dieser Arbeit gefahren wurde, waren 300mmol Ansätze. Ausbeuten für diese Laboransätze lagen immer noch bei 85% für SB1 und bei 69% für SB2. Die Ausbeute kann durch einen einfachen Schritt noch etwas angehoben werden. Dazu wird das Filtrat nach dem abnutschen des Produkts am Rotationsverdampfer auf ein Drittel eingeengt und anschließend weiter gerührt. So wird

das Reaktionsgleichgewicht wieder weiter Richtung Produkt verschoben und es wird mehr SB1 oder SB2 erhalten. Auf diese Weise kann die Ausbeute nochmals auf 92% (SB1) bzw. auf 77% (SB2) gesteigert werden.

Das Betain SB3 stellt ein nützliches Intermediat für die Synthese von weiteren Sulfobetainen mit Reaktivankern dar, die nicht kommerziell erhältlich sind, da sich die primäre Aminogruppe einfach modifizieren lässt (z.B. zur Einführung einer Carbonsäuregruppe wie in SB4). Außerdem lässt es sich selbst unter Verwendung von Vernetzungsreagenzien in Betain-Oberflächen einbauen.

Die 3-Stufen-Synthese liefert insgesamt eine recht hohe Ausbeute von bis zu 85%. Im ersten Schritt muss die primäre Aminogruppe des 3-Dimethylaminopropyl-1-amin (4) zwingend mit Boc_2O geschützt werden um das BOC-Carbamat 5 zu erhalten, da die folgende Umsetzung mit den Sultonen (2 und 3) nicht selektiv an tertiären Aminen erfolgt. Im 3-Schritt wird die Carbamat-Schutzgruppe mit Salzsäure (4 M) abgespalten. Die Spaltungsprodukte sind CO_2 und Isobuten, welche das Produkt SB3 aber nicht weiter verunreinigen, da es leicht flüchtige Substanzen sind und spätestens beim abschließenden einengen verdampfen. Durch die Behandlung mit Salzsäure liegt SB3 als Hydrochlorid (SB3*HCl) vor. Um das freie Amin zu erhalten muss der pH-Wert des in Wasser gelösten SB3*HCl mit Natronlauge basisch eingestellt werden (mindestens pH=8).

Zur Einführung eines Carbonsäureankers wurde SB3 anschließend mit Bernsteinsäureanhydrid in wässriger, alkalischer Lösung umgesetzt. Allerdings erwies sich die Aufreinigung und Charakterisierung des Sulfobetains SB4 als äußerst schwierig (Tabelle 4).

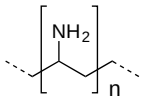
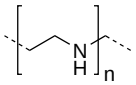
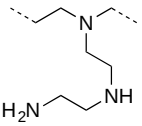
Die Struktur der Produkte SB1, SB2 und SB3 konnte mittels ^{1}H-NMR-Spektroskopie eindeutig zugeordnet werden. Bei SB4 war es nicht möglich die synthetisierte Substanz vollkommen zu charakterisieren, da sich das Sulfobetain nicht in Deuteriumoxid löst. Auch nicht durch Variation des pH-Werts. Auch in anderen deuterierten Lösemitteln konnte das Produkt nicht vollständig gelöst werden.

Für die folgenden Kupplungsversuche an den Polyaminen wurden demzufolge die Sulfobetaine SB1 - SB3 ausgewählt.

4.2 Modifizierung der Polymere

Für die Modifizierung von Polyaminen mit Betain-Seitenketten wurde aus den kommerziell verfügbaren Varianten Polyethylenimin (PEIm) und Polyvinylamin (PVAm) ausgewählt. Für diese Auswahl sprachen verschiedene Gründe. Beide Polymere werden bereits für industrielle Anwendungen genutzt, z.B. in der Papierindustrie, und sind im Großmaßstab zu vergleichsweisen günstigen Preisen erhältlich (unter 10 €/kg). Außerdem sind verschiedene Polymertypen verfügbar, die sich z.B. in der Kettenlänge unterscheiden. Darüber hinaus weisen beide Polymere zwar ähnliche, aber dennoch hinreichend unterschiedliche Strukturen auf, die ebenfalls Einfluss auf die gewünschten Eigenschaften haben können.

Tabelle 5. Industriell genutzte Polyamine.

Polyamin	Handelsname	M_w [Da]	Polyamin	Handelsname	M_w [Da]
PVAm			**PEIm**		
	Lupamin® 1595	<10.000	 linear		25.000
	Lupamin® 5095	45.000			
	Lupamin® 9095	340.000	 verzweigt	Lupasol FG	800
				Lupasol WF	25.000
				Lupasol PS	750.000

Technische PVAm-Produkte, die unter dem Namen Lupamin® verkauft werden, sind wässrige Lösungen mit einem Polymergehalt von 10-15%, die einen großen Salzanteil aufweisen. Reines PVAm ist auf dem Markt nur als Hydrochlorid (PVAm*HCl) erhältlich, welches deutlich teurer ist (85€/1g). Technische PEIm-Produkte werden unter dem Namen Lupasol verkauft und sind als wässrige Lösungen, z.T. aber auch als Reinstoffe erhältlich.

Für die Generierung von antiadhäsiven Polyaminen, die für eine Ausrüstung von Textilien genutzt werden können, wurden verschiedener Substanzen eingesetzt, die entweder kommerziell erhältlich sind oder wie in Kapitel 4.1 beschrieben durch kurze Synthesen hergestellt wurden (Abbildung 21). Die meisten der Bausteine weisen eine

Methacryl- bzw. Acrylgruppe als Reaktivanker auf, der in einer Michael-Addition mit den primären Aminogruppen unter Ausbildung von sekundären Aminen reagiert. Neben den Betain-Bausteinen (SBMA, SB1 und SB2) wurde hier auch ein PEG-Derivat (PEGMA) eingesetzt, da PEG-basierte Oberflächen sozusagen den „Goldstandard" für antiadhäsive Eigenschaften darstellen. Basierend auf den literaturbekannten Beispielen wurde als Modellsystem zunächst PEIm als Polyamin-Komponente untersucht (Kapitel 4.3).

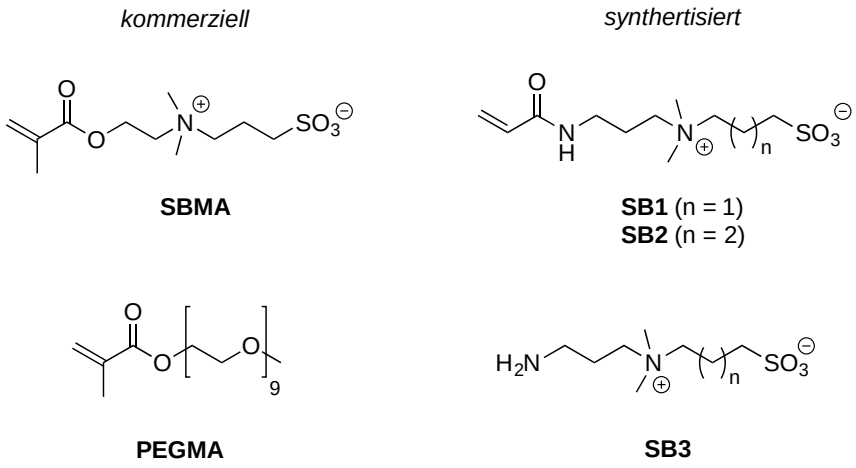


Abbildung 21. Verwendete Kupplungsreagenzien zur Modifizierung der Polyamine

Alternativ wurden auch ein Sulfobetain mit Aminogruppen genutzt (SB3), die mittels eines Quervernetzers an Polyvinylamin gebunden werden sollten (Kapitel 4.5.1).

4.3 Polyethylenimin (PEI)

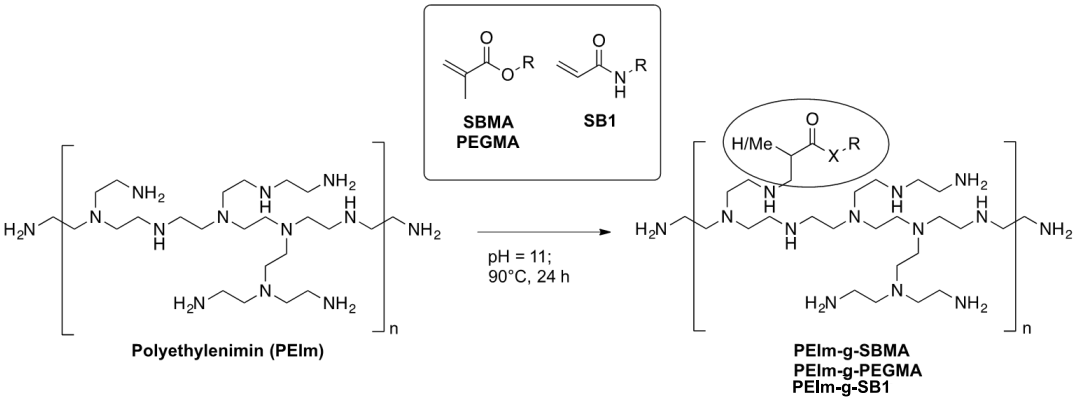
4.3.1 Synthese von modifiziertem PEIm

Für die Modifikation des reinen PEIm (Mw = 25.000, verzweigt) wurden zwei verschiedene kommerziell erhältliche Methacrylate genutzt, um verschiedene Modellpolymere erhalten zu können:

1. **SBMA** (Sulfopropylbetain-Methacrylat)

2. **PEGMA** (PEG-Methacrylat, als Benchmark für gute antiadhäsive Eigenschaften)

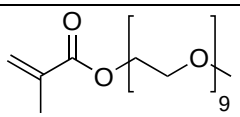
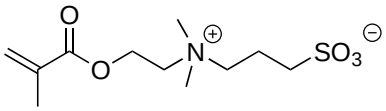
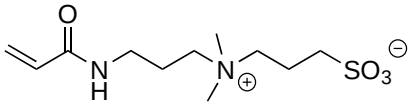
Zusätzlich wurde das synthetisierte Sulfobetain SB1 ebenfalls für die Modifikation verwendet. Die Monomere wurden PEIm in unterschiedlichen Molverhältnissen zugesetzt, sodass unterschiedliche Substitutionsgrade (DS, durchschnittlicher Substitutionsgrad) resultieren sollten. Die Reaktion erfolgte in Anlehnung an Literaturbedingungen in wässriger, alkalischer Lösung bei erhöhter Temperatur, wobei sich hier ein Erhitzen auf 90°C als vorteilhaft erwies (Schema 2) [129]. Das Reaktionsgemisch wurde nach der Reaktion erst dialysiert, dann am Rotationsverdampfer eingeengt und abschließend gefriergetrocknet.



Schema 2. Allgemeines Reaktionsschema von PEIm mit (Meth-)Acrylaten.

Die erfolgreiche Kupplung aller drei Monomere an das PEIm konnte mittels ^{1}H-NMR-spektroskopie nachgewiesen werden. Allerdings lieferten die Methacrylate SBMA und PEGMA nur vergleichsweise kleine Substitutionsgrade DS von <10% (Tabelle 6). Dies ist wahrscheinlich auf eine sterische Hinderung der Methacrylat-Doppelbindung aufgrund der C-2-Methlygruppe zurückzuführen, sodass der nucleophile Angriff der Aminogruppen des verzweigten PEIm im Rahmen der Michael-Addition gehindert ist. Für diese Interpretation spricht, dass bei Verwendung des Acrylats SB1, das die C- 2- Methylgruppe nicht enthält, ein DS von bis zu 36 % erreicht werden konnte.

Tabelle 6. Maximale Substitutionsgrade DS, die durch die Michael-Addition an PEIm erzielt werden konnten.

Monomere	Kupplung erfolgreich	Substitutions-grad
 **PEGMA**	✓	< 10 %
 **SBMA**	✓	< 10 %
 **SB1**	✓	bis zu 36 %

Bei Verwendung von SB1 war es zudem leicht möglich, den Substitutionsgrad durch die Wahl des Molverhältnisses zu variieren (Tabelle 6). Allerdings tritt bei DS = 36% eine Limitierung ein. Wird die Einsatzmenge von SB1 noch weiter erhöht, steigt der DS nicht noch weiter an.

Es wurde ein Ansatz gefahren, bei dem eine vollständige Substitution erreicht werden sollte. Die Auswertung des 1H-NMR's zeigte allerdings keinen weiteren Anstieg des DS. Selbst bei einem vierfachen Überschuss an Acrylat und einer verlängerten Reaktionszeit (48h) konnte der maximale Substitutionsgrad von DS = 36% nicht weiter gesteigert werden. Das zeigt sehr deutlich, dass auch mit Acrylaten bei höheren Acrylatmengen eine sterische Hinderung eintritt, so dass keine hohen Substitutionsgrade erhalten werden können.

Tabelle 7. Übersicht der eingesetzten Molverhältnisse

Molverhältnis (prim. und sek. Amine PEI / SB1)	max. SG	SG ermittelt mittels ^{1}H-NMR
1.00 : 0.14	14 %	14 %
1.00 : 0.19	19 %	17 %
1.00 : 0.28	28 %	24 %
1.00 : 0.43	43 %	36 %
1.00 : 1.03	100 %	37 %
1.00 : 4,08	100 %	36 %

Da es für die gewünschte Anwendung sinnvoll wäre, auch Polyamine mit sehr hohen Substitutionsgraden zu synthetisieren, um einen sehr guten antiadhäsiven Effekt zu erhalten, könnte dies ein großer Nachteil, bei der Verwendung von PEIm als Ausgangspolymer, sein. Die so zu erzielende Betaindichte im Polymerrückgrad ist sehr gering und es ist fraglich ob bei einem verzweigten Polyamin wie PEIm eine so geringe Substitution ausreicht um stark hydratisierte Oberflächen zu erhalten.

4.3.2 Erste Ausrüstung von PET mit PEIm

Für die ersten Ausrüstungsversuche wurde im ersten Schritt nur Polyester mit PEIm ausgerüstet. Hierzu wurde für die Laboruntersuchungen ein Tauch-Trocknungs-Fixier-Prozess („pad-dry-cure“) verwendet, bei dem die Gewebestücke in eine wässrige PEIm-Lösung (5 Gew.-%) getaucht wurden. Nachdem die Gewebestücke mit einem Foulard definiert abgequetscht (80%) wurden, wurde das Gewebe in einem Spannrahmen bei 150 °C für 8 min fixiert.

Die Gewebe, welche für die Ausrüstung verwendet wurden, wurden sowohl extrahiert (24h EtOH/H_2O 1:1; 24h Petrolether 40-60°C) als auch ohne Vorbehandlung direkt verwendet. Außerdem wurde bei zwei verschiedenen pH-Werten ausgerüstet (pH = 5

und pH = 11). Hierzu wurde die PEIm-Lösung entweder mit Natronlauge oder mit Salzsäure auf den entsprechenden pH-Wert gebracht. Um überschüssiges Polymer zu entfernen wurden die Textilien mit heißem Wasser (5 Minuten) und dest. Wasser (5 Minuten) ausgewaschen.

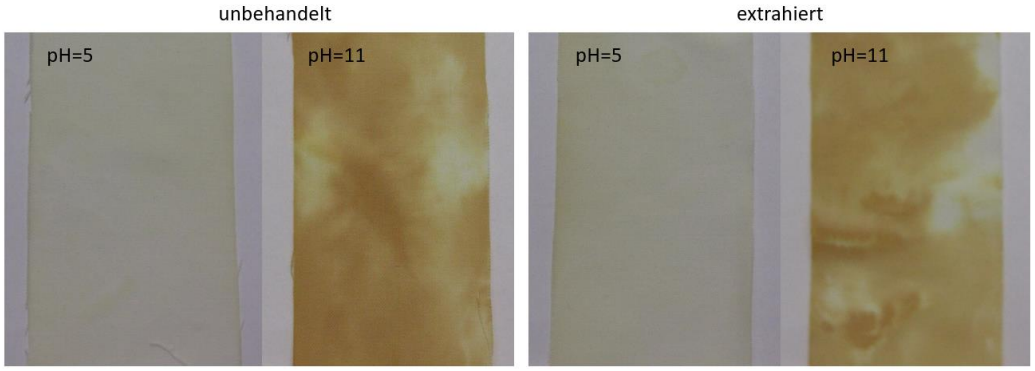


Abbildung 22 Unbehandeltes und extrahiertes PET ausgerüstet bei pH=5 und pH=11

Wie in Abbildung 22 gut erkennbar ist, verfärbt sich das PET beim Ausrüsten mit PEIm leicht gelblich (pH=5) und sogar bräunlich bei pH=11. Außerdem ist gut zu erkennen, dass die Beschichtung nicht gleichmäßig ist. Auch eine Ausrüstung bei der der Polymerlösung etwas Marlipal O13/60 zur besseren Benetzbarkeit hinzugefügt wurde, verbesserte die optische Homogenität der Beschichtung nicht. Ebenso führt eine Reduzierung der Fixiertemperatur von 150°C auf 140°C nicht dazu, dass sich die Textilien nicht verfärben. Eine Temperatur von 140°C muss allerdings zwingend eingehalten werden, da diese für eine thermische Fixierung nötig sind. Bei geringeren Temperaturen kann die Kondensation der freien Carbonsäuren des Polyesters am Ende der Polymerketten nicht mit den freien Aminen reagieren oder auch die Aminolyse bzw. trans-Amidierung der Estergruppen nicht stattfinden [130] [131].

Um eine erste Einschätzung zu bekommen, wie viel Polymer auf der Gewebeoberfläche verankert wurde, wurde die Massenauflage gravimetrisch bestimmt.

Tabelle 8: Übersicht der Massenauflagen der Beschichtung von PET mit PEIm

Vorbehandlung PET	pH-Wert	Massenauflage* nach Fixieren in %	Massenauflage* nach waschen in %
Unbehandelt	5	5,26	3,38
Unbehandelt	11	8,43	6,23
Extrahiert	5	3,07	1,21
Extrahiert	11	3,43	2,81

*Mittelwert aus 6-fach Bestimmungen

Es ist deutlich erkennbar, dass die Vorbehandlung des Polyesters einen Einfluss auf die Massenauflage ausübt. Die Gewebe, welche vor dem Einsatz extrahiert wurden, weisen bei beiden pH-Werten eine niedrigere Massenauflage auf. Bei den nicht extrahierten Geweben ist die Massenauflage am Ende bei beiden Varianten mehr als doppelt so hoch. Bei der Beschichtung bei pH = 5 hat sich die Massenauflage sogar fast verdreifacht. Die Schlichte auf der PET-Faseroberfläche führt demnach zu einer deutlich erhöhten Polymerauflage. Da in Schlichtemitteln häufig auch Acrylsäuren oder Cellulosederivate vorkommen, ist es wahrscheinlich, dass das PEIm bei der Fixierung auch mit Bestandteilen der Schlichte reagiert und es so zu den erhöhten Massenauflagen führt. Schon aus diesem Grund ist es sinnvoll für wissenschaftliche Versuche das PET vor der Benutzung zu extrahieren. Außerdem zeigen die Ergebnisse, dass bei einer Beschichtung mit basischer PEIm-Lösung eine ca. doppelt so hohe Auflage erreicht werden kann. Eine einfache Begründung ist, dass im basischen Milieu die einzelnen Polymerketten des PEIm eher als Knäule vorliegen, da die Amingruppen zum größten Teil nicht protoniert sind und es so nur zu sehr kleinen elektrostatischen Wechselwirkungen kommt. Vereinfacht wird eine dichtere Auflage aus Polymerknäulen erhalten. Im sauren hingegen sind viele Amine protoniert und sorgen dementsprechend für eine elektrostatische Abstoßung untereinander, so dass die einzelnen Polymerketten eher in gestreckter Form vorliegen werden und sich ein dünner Monolayer auf der Oberfläche ausbildet.

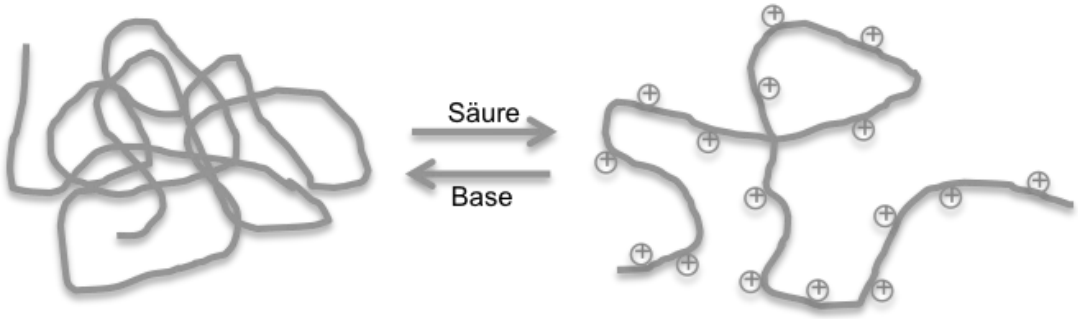


Abbildung 23; Modelvorstellung zum Verhalten von Polykationen in wässrigen Lösungen unter Zusatz von Säure bzw. Lauge

Das ausgerüstete Polyestergewebe (PET-PEIm) wurde anschließend mittels FT-IR-ATR-Spektroskopie untersucht. Wie in Abbildung 24 gut zu erkennen ist, waren keine signifikanten Unterschiede zwischen Rohgewebe und ausgerüstetem Polyester feststellbar. Auch die Optimierung der Messmethode durch erhöhte Scanzahlen und einer längeren Messdauer brachte keine Erfolge, sodass die gewählte FT-IR-ATR-Spektroskopie nicht die Methode der Wahl ist, um solche Beschichtungen näher zu charakterisieren.

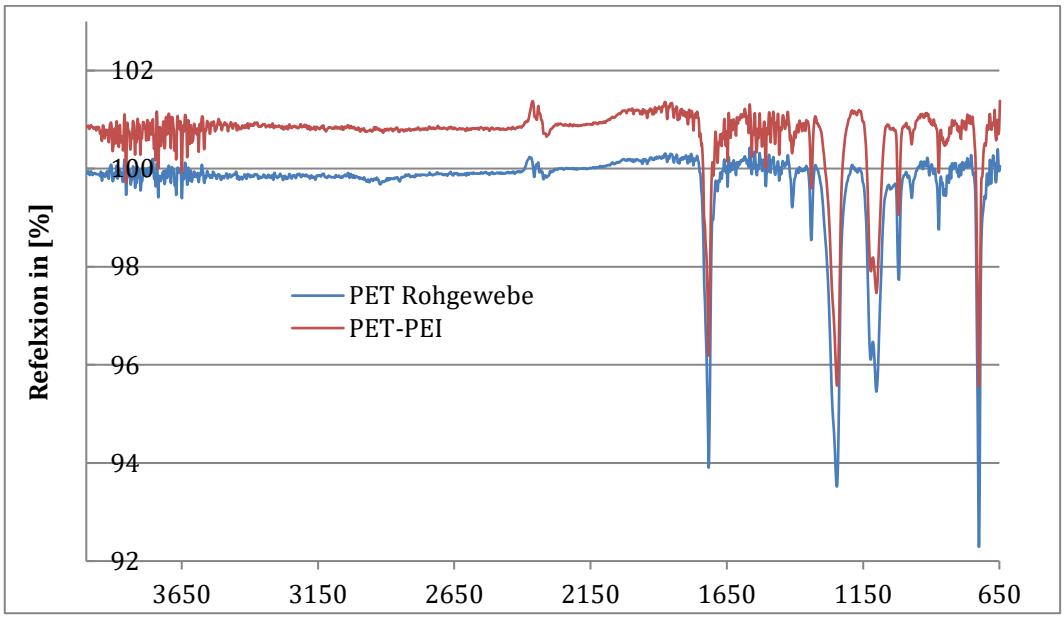


Abbildung 24. ATR-IR Spektren von dem PET-Rohgewebe (blau) und PET, welches mit PEIm ausgerüstet wurde (rot)

Die Valenzschwingungen ν N-H für die neu eingeführten Amine müssten normalerweise bei 3400-3500 cm^{-1} sichtbar werden und die Deformationsschwingung δ N-H bei 600 - 900 cm^{-1} und 1550-1650 cm^{-1}.

4.3.3 Ausrüstung von PET mit PEIm-g-SB1

Um PET mit einem modifizierten PEIm auszurüsten, wurde PEIm-g-SB1 mit DS=21% ausgewählt. Die Ausrüstung fand wie in Kapitel 4.3.2 beschrieben statt. Die Konzentrationen der verwendeten Polymerlösungen lagen bei 1% und 5%.

Um die Beschichtung auf dem Gewebe besser charakterisieren zu können, wurde ein Mikrowellenaufschluss durchgeführt und anschließend ICP-OES Messungen gemacht. Durch die ICP-OES Messungen lässt sich der Schwefelgehalt auf dem Textil bestimmen. Da das modifizierte PEIm Schwefel (aus SB1) enthält, kann der Schwefelgehalt als Maß für eine erfolgreiche Ausrüstung dienen. Außerdem wurde parallel mittels REM-EDX der Schwefelgehalt auf der Oberfläche der Gewebe bestimmt.

Tabelle 9. Schwefelgehalt des ausgerüsteten Polyestergewebes ermittelt mittels ICP-OES und REM-EDX.

Konzentration **PEIm-g-SB1**	Waschschritt	ICP-OES Masse S in mg / g Textil	REM-EDX
1%	–	12 mg/g	1.66 %
1%	+	0 mg/g	0 %
5%	–	17 mg/g	1.79 %
5%	+	0 mg/g	0 %

Sowohl die ICP-OES-Ergebnisse als auch die REM-EDX-Ergebnisse (vgl. Tabelle 9) zeigen deutlich, dass direkt nach dem Ausrüsten, d.h. ohne Waschschritt nach dem Fixieren, Schwefel nachgewiesen werden kann. Allerdings ist das modifizierte PEIm nicht kovalent an die Textilfaser gebunden, da es nach dem Waschschritt nicht mehr auf dem

Gewebe nachweisbar ist. Das lässt darauf schließen, dass schon bei einem Substitutionsgrad von 21% die Anzahl bzw. die Reaktivität der verbliebenen Amine nicht mehr ausreicht, um eine effiziente kovalente Fixierung durch Reaktion mit dem Polyester zu ermöglichen.

Da durch die Ausrüstung mit PEIm-g-SB1 ebenfalls eine starke Vergilbung des Polyesters eintrat (siehe Abbildung 25), der maximal erzielte Substitutionsgrad sehr gering war und die ersten Ergebnisse bezüglich der Beständigkeit der Beschichtung nicht sehr erfolgversprechend waren, wurden keine weiteren Versuche mit PEIm als Ausrüstungspolymer durchgeführt.

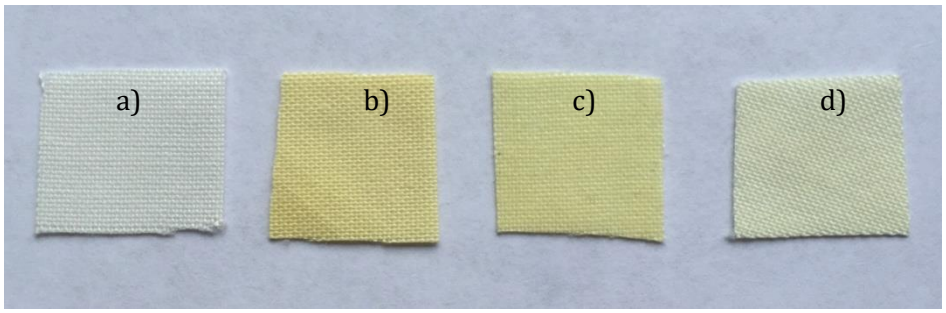


Abbildung 25. Verfärbungen von PET durch die Ausrüstung (150°C, 8 Minuten) mit Polyethyleniminen: a) PET unbehandelt, b) mit PEI ausgerüstet (1 Gew.%ige Lösung), c) mit PEI-SB1 (1 Gew.%ige Lösung) und d) PEI-SB1 (1 Gew.%ige Lösung, gewaschen).

4.4 Polyvinylamin (PVAm)

4.4.1 Vorarbeiten

Da es sich bei den verwendeten Lupamin® - Lösungen um großtechnisch hergestellte Produkte handelt, ist es wichtig das Gemisch genauer zu charakterisieren, vor allem, weil im Produktdatenblatt nur wenige allgemeine Angaben gemacht werden. Bei der Lösung handelt es sich also nicht um eine reine Polymerlösung, sondern um das nicht aufgereinigte Produkt aus der vorangegangenen Polyvinylamin-Synthese ausgehend von Vinylformamid (vgl. Abbildung 10).

Bei der Produktion des Lupamin® 9095 z.B. werden nach Angaben der BASF 12 Gew.-% Vinylformamid (VFA) eingewogen und radikalisch in Wasser polymerisiert. Es entsteht demnach eine Polyvinylformamidlösung (PVFA) mit 12 Gew.-% Polymergehalt. Bei der anschließenden Hydrolyse von PVFA mit Natriumhydroxid (NaOH) um PVAm zu erhalten wird Ameisensäure (HCOOH) abgespalten. Das bedeutet, dass sich das

Molekulargewicht des Polymers verändert (VFA-Wiederholungseinheit 71 g/mol). Bei vollständiger Hydrolyse hat dies ein Gewichtsverlust von 39% zur Folge, da sich das Molekulargewicht um 28 g/mol (-C=O) auf 43 g/mol, verringert. Der Polymergehalt der Reaktionslösung verringert sich demnach maximal auf etwa 7,3 Gew.-%.

Im technischen Datenblatt zu Lupamin® 9095 wird ein ungefährer Polymergehalt von 6 bis 8 Gew.-% angegeben. Das Molekulargewicht von PVFA lag zuvor bei 340000 g/mol, für das entstandene PVAm ergibt sich deshalb nur noch ein ungefähres Molekulargewicht von 206000 g/mol. Zu berücksichtigen ist jedoch, dass die Hydrolyse üblicherweise nicht vollständig verläuft. Laut Herstellerangaben geben die letzten beiden Zahlen des Handelsnamens an, wie hoch der Hydrolysegrad ist. Das bedeutet, dass bei Lupamin® 9095 ein Hydrolysegrad von 95% vorliegen sollte. Andererseits gibt es auch Angaben der BASF im Technischen Datenblatt zu Lupamin® 1595, dass der Hydrolysegrad hier bei mind. 90% liegt. Das bedeutet, dass bis zu 10 % Formamid-Gruppen in der Polymerlösung verbleiben. Mit Salzsäure wird anschließend der pH-Wert zwischen 7 und 9 eingestellt, das Molekulargewicht erhöht sich dementsprechend wieder. Der Anteil nicht flüchtiger Komponenten in der Lupamin® 9095 Lösung beträgt nach den Angaben des technischen Datenblattes im gelieferten Endprodukt 20 bis 22 Gew.-%.

Die Lupamin® 9095 Lösung enthält also neben dem gewünschten Polymer einen sehr hohen Anteil an Salzen. Durch die Reaktionsführung entsteht Natriumformiat aus der Hydrolyse mit Natronlauge und Natriumchlorid aus der Neutralisationsreaktion mit Salzsäure.

Aus diesem Grund ist es unerlässlich, die verwendete Lupaminlösung anfangs genau zu charakterisieren um auch eine exakte Reaktionsführung bei der Modifikation zu ermöglichen.

Zu Beginn wurde erst der Feststoffanteil von Lupamin® 1595 und 9095- bestimmt. Dazu wurden je 100 g der Lösung am Rotationsverdampfer bis zur vollständigen Trockenheit eingeengt. Der Rückstand wurde gewogen, um den Feststoffanteil zu bestimmen. Der Massenanteil berechnet sich wie folgt:

$$w = \frac{m_1}{m_0}$$

w = Massenanteil; m_0 = Masse insgesamt; m_1 = Masse Rückstand

Von dem Rückstand wurde ein ^{1}H-NMR-Spektrum aufgenommen. Danach wurde der Rückstand in etwas Wasser gelöst, in einen Dialyseschlauch (MWCO = 3500 Da) gegeben und über Nacht dialysiert. Durch die Dialyse wurden alle niedermolekularen Anteile, zum Beispiel das Natriumformiat, entfernt, während das langkettige Polymer zurückgehalten werden sollte.

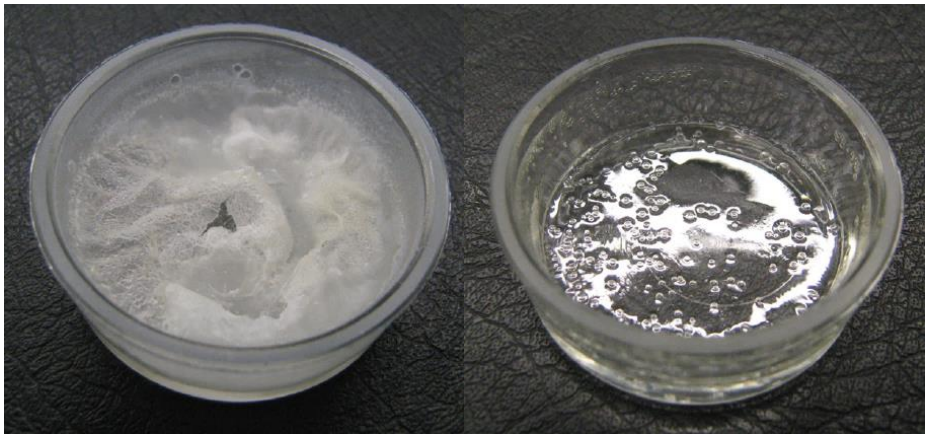


Abbildung 26: Rückstand von Lupamin® 9095 nach dem einengen (links) und nach der Dialyse (rechts)

Nach der Dialyse wurde der Inhalt des Dialyseschlauchs erneut eingeengt und wieder ausgewogen. Der nun erhaltene Rückstand sollte den Polymergehalt an PVAm in den Lupamin® -Lösungen wiedergeben. Auch von diesem Rückstand wurde ein ^{1}H-NMR-Spektrum aufgenommen. In Abbildung 26 ist gut zu erkennen, dass der Rückstand nach dem Abdampfen des Wassers milchig und salzig aussieht, während der Rückstand nach der Dialyse von der Menge her wesentlich geringer ist, aber der Rückstand nun klar und zäh wirkt.

Der ermittelte Polymergehalt für Lupamin® 1595 (vgl. Tabelle 10) liegt etwas unter den Angaben vom Hersteller (vgl. Tabelle 2). Ein Grund dafür könnte sein, dass die Polydispersität sehr groß ist. Das bedeutet, dass eine breite Molmassenverteilung vorliegt und somit durch die Dialyse viele sehr kurzkettige Fragmente verloren gehen und der Polymergehalt im Rückstand kleiner ist als er wirklich sein sollte.

Tabelle 10. Übersicht über die ermittelten Feststoff- und Polymergehalte von Lupamin® 1595 und Lupamin® 9095

	Lupamin® 1595	Lupamin® 9095
Molekulargewicht[1]	< 10000 g/mol	340000 g/mol
Feststoffanteil nach Einengen	26 %	21 %
Feststoffanteil nach Dialyse	5 %	7,5 %
Hydrolysegrad	7%	10%
pH-Wert	8	8

[1] laut Hersteller (BASF AG).

Für die Lupamin® 9095 Lösung sind alle erhaltenen Werte im Rahmen der zuvor errechneten, bzw. der von der BASF angegeben Herstellerangaben im Datenblatt. Beim Vergleich der beiden aufgenommenen ^{1}H-NMR-Spektren ist gut zu erkennen, dass die Spektren identisch sind. Es sind keine anderen organischen Verunreinigungen vorhanden. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die zusätzlichen 15–20 Gew. % Feststoffanteil wirklich nur von Natriumformiat (nicht im ^{1}H-NMR zu detektieren) und Natriumchlorid stammen, die im Verlauf der technischen Herstellung anfallen. Der Peak von 1.5-2 ppm ist den beiden Protonen der CH_2-Gruppe des Polyvinylamins zuzuordnen. Die beiden Peaks zwischen 3-4 ppm entsprechen der CH-Gruppe, wobei die Peakaufspaltung aus der teilweisen Protonierung der benachbarten Aminogruppe resultiert. Werden die Signalintensitäten der beiden Peaks zwischen 3-4 ppm ins Verhältnis gesetzt, kann so der Protonierungsgrad des Polyvinylamins berechnet werden. Der Peak bei ca. 3.8 ppm spiegelt den Anteil der protonierten Amine wider und der Peak bei 3.3 ppm den Anteil der Amine, die nicht protoniert sind. In dem Spektrum in Abbildung 27 liegt demzufolge der Protonierungsgrad bei ca. 40%. Außerdem ist deutlich der Peak bei 8.0 ppm zu sehen. Dieser stammt von den nicht hydrolysierten Formamidresten. Wird dieser Peak mit den beiden Peaks zwischen 3-4 ppm ins Verhältnis gesetzt kann hiermit der Hydrolysegrad berechnet werden. Der Hydrolysegrad liegt dem NMR zur folge wie in Tabelle 10 angegeben bei 10%.

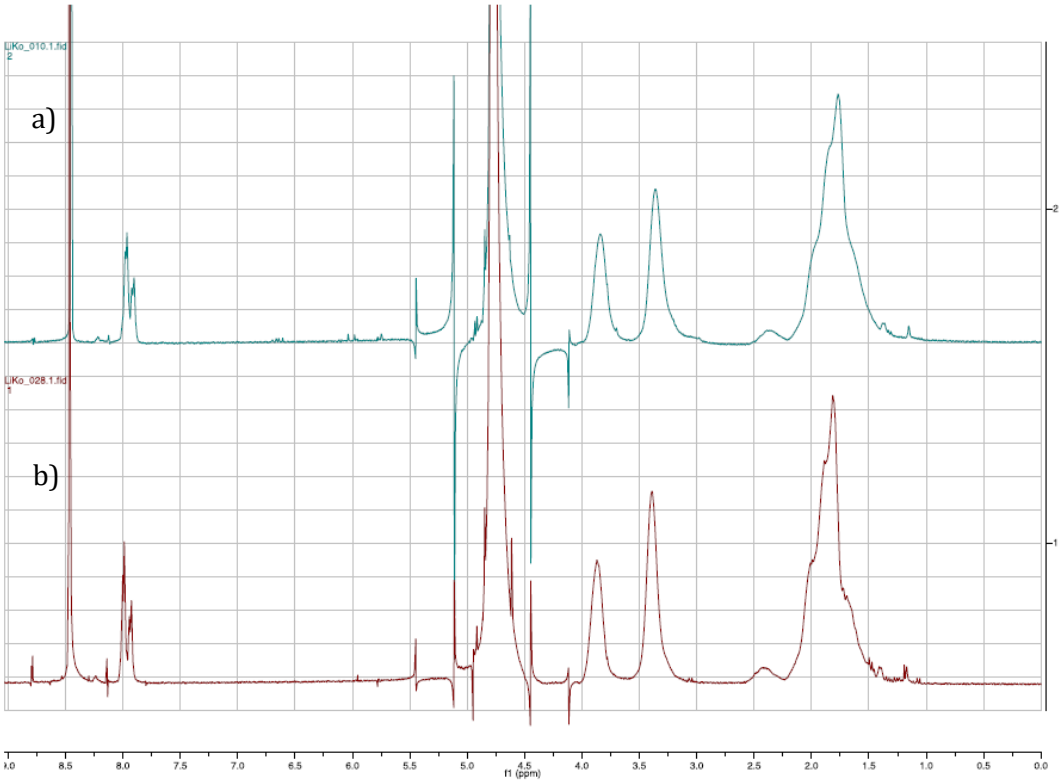


Abbildung 27. Vergleich der ^{1}H-NMR-Spektren (D_2O, 300 MHz, aufgenommen bei pH=7) von Polyvinylamin (Lupamin® 9095): a) Lupamin® 9095 technisch, b) Lupamin® 9095 dialysiert.

Für die Nachfolgenden Reaktionen ist es unheimlich wichtig, bei der Verwendung der nicht gereinigten Lupaminlösungen, immer den realen Polymergehalt und auch den Hydrolysegrad mit einzubeziehen um Äquivalente zu berechnen.

Ausrüstung von PET und BW mit PVAm

Für die orientierenden Versuche wurde sowohl extrahiertes Gewebe als auch nicht extrahiertes Gewebe verwendet. Die verwendete BW ist laut Hersteller zwar entschlichtet, aber wurde ebenfalls extrahiert. Außerdem wurde erst einmal nur Lupamin® 9095 verwendet, welches vorab dialysiert und eingeengt wurde, so dass mit dem gereinigten PVAm gearbeitet wurde. So konnte für die ersten Versuche die PVAm-Konzentration exakt eingestellt werden.

Polyester

Bei der Ausrüstung von PET-Gewebe wurde analog zu Kapitel 4.3.2 vorgegangen. Zusätzlich zu den pH-Werten von pH=5 und pH=11 wurde auch bei pH=8 ausgerüstet, da dies der pH-Wert ist den die Lupamin® Lösungen aufweisen und darauf hingearbeitet werden soll, direkt mit den Ausgangslösungen zu arbeiten.

Baumwolle

Vorbehandlung

Die BW-Stücke wurden in eine Cyanurchloridlösung (1 g/L in Aceton) getaucht und für 5 Minuten in der Lösung gehalten. Anschließend wurden die Gewebestücke zum Trocknen in den Abzug gelegt, bis das Aceton vollständig verdampft war.

Ausrüstung

Die Ausrüstung des vorbehandelten Baumwollgewebes erfolgte analog zu der Ausrüstung von Polyester (siehe oben).

Bei den Proben konnte visuell keine Vergilbung festgestellt werden. Eine Aussage ob die Beschichtung homogen ist, kann auf diesem Weg demnach nicht gemacht werden.

Um auch hier eine erste Einschätzung zu bekommen, wie viel Polymer auf der Gewebeoberfläche verankert wurde, wurde ebenfalls die Massenauflage bestimmt. Hierzu wurden die zu beschichtenden Gewebestücke vorab gewogen und ebenfalls nach dem Waschschritt im trockenen Zustand.

Tabelle 11: Übersicht über die Massenauflagen der ausgerüsteten Gewebe

Vorbehandlung	pH-Wert	Massenauflage* nach Fixieren in %	Massenauflage* nach waschen in %
PET Unbehandelt	5	3,62	2,89
PET Unbehandelt	8	9,26	6,15
PET Unbehandelt	11	12,01	6,61
PET Extrahiert	5	2,07	2,3
PET Extrahiert	8	8,89	5,45
PET Extrahiert	11	10,44	5,74
BW Unbehandelt	5	7,04	5,93
BW Unbehandelt	8	9,58	8,80
BW Unbehandelt	11	10,25	9,74
BW Extrahiert	5	5,29	5,11
BW Extrahiert	8	8,33	6,92
BW Extrahiert	11	9,62	7,08

*Mittelwert aus 6-fach Bestimmungen

Auch bei der Ausrüstung von PET mit PVAm übt das vorab extrahieren der Proben einen Einfluss auf die Proben aus. Allerdings ist dieser nicht so signifikant wie bei der Ausrüstung mit PEIm. Durch das extrahieren der PET Proben wurde die Massenauflage im gewaschenen Zustand um knapp 1 % gesenkt. Auch bei den BW Proben, welche entschlichtet sein sollten, ist die Massenauflage bei den unbehandelten Proben höher (ca. 2%) als bei den extrahierten. Aus diesem Grund wurde für alle folgenden Versuche nur noch mit extrahiertem Gewebe gearbeitet. Ein großer Unterschied zu den Beschichtungen von PET mit PEIm, ist, dass bei der Ausrüstung mit PVAm der pH-Wert eine größere Rolle spielt. Bei einem pH-Wert von 5 ist die Massenauflage deutlich geringer als bei den höheren pH-Werten. Da PVAm, im Vergleich zu PEIm, ein lineares Polymer mit sehr kleiner Wiederholungseinheit ist, kommt der Effekt der elektrostatischen Abstoßung im sauren noch deutlicher zum Tragen als bei PEIm, welches verzweigt ist und eine vergleichsweise große Wiederholungseinheit hat. Bei den

BW-Proben ist der Effekt nicht so deutlich zu sehen. Dies liegt allerdings daran, dass die BW mit Cyanurchlorid vorbehandelt wurde. Cyanurchlorid fungiert als Ankermolekül und steigert die Reaktivität der BW deutlich. Dadurch kann bei pH 5 wesentlich mehr PVAm auf der Oberfläche verankert werden. Auch im basischen werden bei BW fast doppelt so hohe Massenauflagen erreicht als bei den entsprechenden PET Proben. Auffällig ist außerdem, dass sowohl bei BW als auch bei PET der Anstieg der Massenauflage von pH=8 auf pH=11 nur noch recht gering ist. Demnach ist es nicht notwendig die Ausrüstungslösung auf einen höheren pH-Wert als pH 8 einzustellen, da dadurch keine wesentlich höhere Massenauflage erzielt werden kann.

Ableitend aus den Versuchen wird also bei allen folgenden Versuchen nur mit extrahiertem Material gearbeitet und bei einem pH-Wert von 8. Da die Haptik der ausgerüsteten Gewebe schon deutlich härter ist, als bei dem nicht ausgerüsteten Gewebe, werden für die Versuche, in denen die Ausrüstung mit aufgereinigtem PVAm mit der Lupamin®-Lösung verglichen wird, die konditionierten Gewebe am Foulard definiert abgequetscht, so dass eine Nassaufnahme von mind. 80 % erreicht wird. Außerdem wird eine Konzentrationsreihe der Ausrüstungslösung angesetzt um die optimale Konzentration zu ermitteln, bei der sowohl die Haptik des Textils nicht beeinträchtigt ist als auch eine zufriedenstellende Massenauflage erreicht wird. Die niedrigste Konzentration liegt dabei bei 0,5 Gew.% PVAm und die höchste bei 5 Gew.%. Ausgerüstet wird lediglich PET Gewebe, da hier für die Ausrüstung keine Vorbehandlung notwendig ist.

Die gravimetrische Analyse der Beladungen, die während der Ausrüstung erreicht wurden, sind in Abbildung 28 dargestellt. Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass die Massenauflagen auch bei einer Ausrüstung direkt mit der Lupamin®-Lösung einen nahezu identischen Verlauf aufweisen wie die Ausrüstungen mit Lösungen die mit aufgereinigtem PVAm angesetzt wurden. Die größte Abweichung ist bei der kleinsten Konzentration zu vermerken. Bei den höheren Konzentrationen ist die Massenauflage in etwa auf gleichem Level.

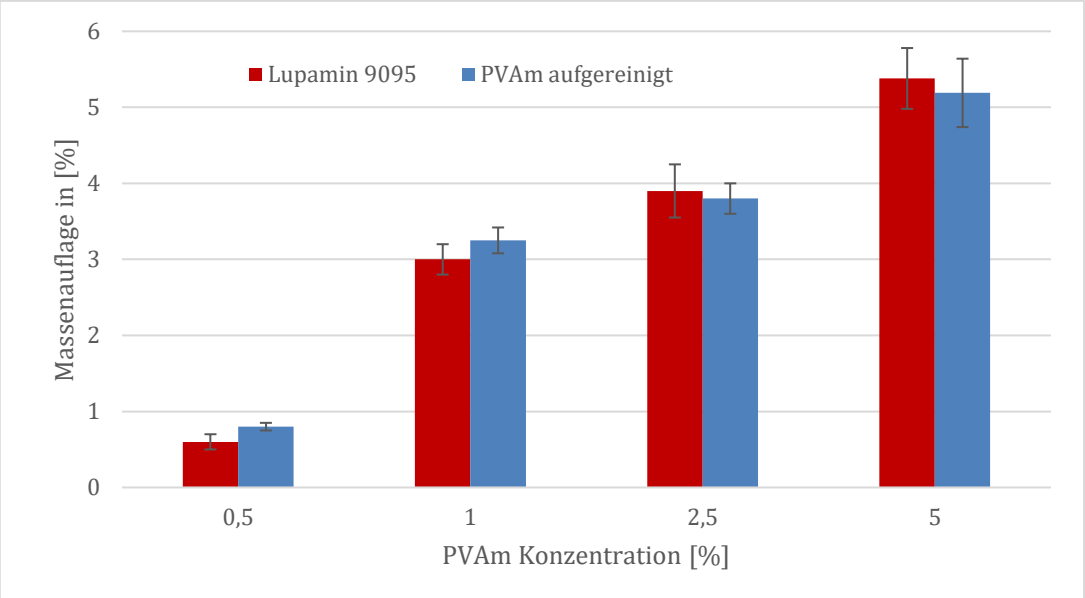


Abbildung 28. Erreichte Massenauflagen bei unterschiedlichen PVAm-Konzentrationen. Mittelwert aus einer 6-fach Bestimmung

Die aufwendige Aufreinigung des technischen Produkts scheint hier also nicht nötig zu sein. Der größte Anstieg der Beladung in Abhängigkeit der Konzentration kann zwischen 0,5% PVAm und 1% PVAm ermittelt werden. Hier wird mit einer Verdopplung der Konzentration eine vier- bis fünffache Massenauflage erreicht. Danach kann die Beladung zwar noch weiter gesteigert werden, dafür muss allerdings auch wesentlich mehr Lupamin® eingesetzt werden. Da die Haptik bei Gewichtskonzentrationen oberhalb von 1% auch schon deutlich beeinflusst wurde (die Gewebe waren fester und nicht mehr so geschmeidig), wurde für die kommenden Ausrüstungsversuche, in denen die modifiziertem Polyvinylamine verwendet wurden, immer mit einer 1 Gew.%igen Polymerlösung gearbeitet.

Ausrüstung von PET und BW mit PVAm-SB1_60

Für einen ersten Ausrüstungsversuch von PET und BW mit modifiziertem-PVAm wurde ein PVAm-SB1 Derivat mit DS=60 gewählt um zu überprüfen ob es, im Gegensatz zu PEIm, kovalent auf der Textiloberfläche verankert werden kann. Genaue Synthesevorschrift und Charakterisierung ist in Kapitel 4.5 beschrieben. Die ausgerüsteten Gewebe (sowohl BW als auch PET) wurden anschließend mittels FT-IR-

Spektroskopie untersucht. Auch hier konnten keine Unterschiede zwischen Rohgewebe und ausgerüstetem Gewebe festgestellt werden.

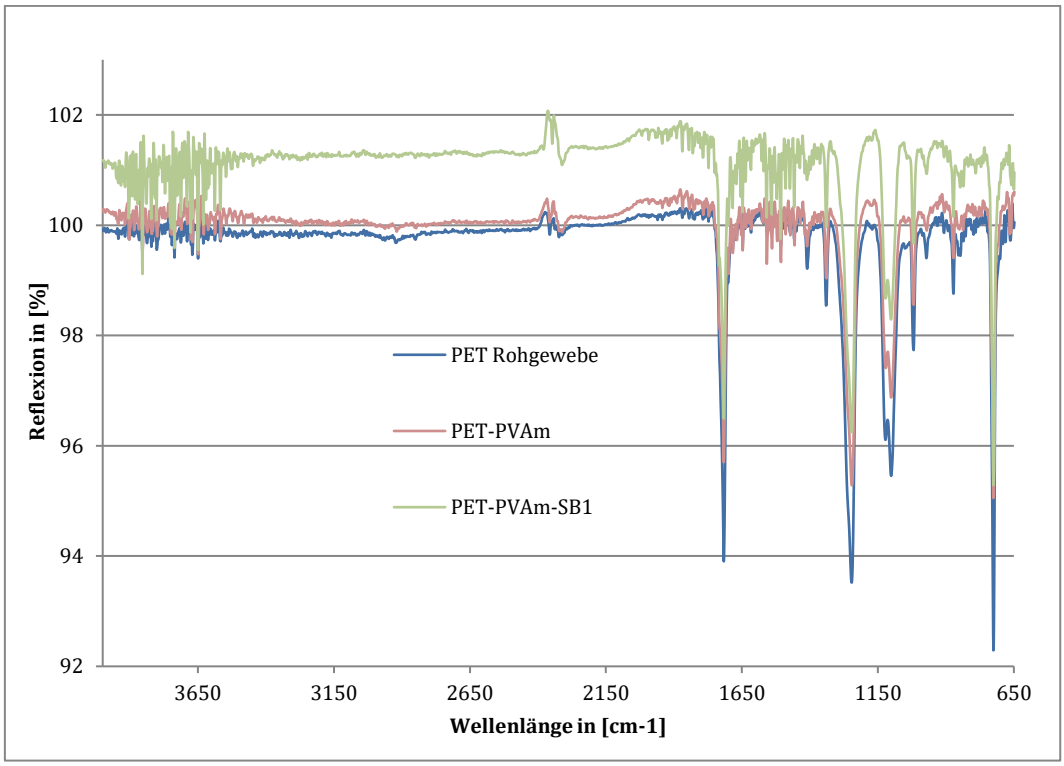


Abbildung 29. FT-IR Spektren von dem PET-Rohgewebe (blau) und PET, welches mit PVAm (rot) und PVAm-g-SB1 mit DS = 60 % ausgerüstet wurde (rot)

Exemplarisch sind in Abbildung 29 die IR-Spektren von den PET-Proben dargestellt. Die NH_2-Valenzschwingung sollte im Spektrum zwischen 3500-3300 cm^{-1} mit einer breiten Bande zu erkennen sein und die Deformationsschwingungen der primären Amine 1650- 1580 cm^{-1}. In keinem der beiden Bereiche kann ein deutlicher Unterschied zu dem normalen PET-Spektrum erkannt werden. Auch die charakteristische Sulfatbande bei ca. 1100 cm^{-1} kann im Spektrum nicht identifiziert werden, wobei hier die Konzentration für eine gute Dedektierbarkeit unterschritten sein könnte. Die FT-IR Spektroskopie ist demnach auch für Gewebeproben die mit PVAm-Derivaten ausgerüstet sind, nicht die passende Analysemethode, da die Massenauflage zu gering ist.

Um sicher zu stellen, dass bei der Ausrüstung mit modifiziertem PVAm überhaupt eine permanente Beschichtung auf dem Gewebe erzielt wurden, wurde wie schon für PEIm beschrieben ICP-OES- und REM-EDX-Messungen durchgeführt, um sowohl den

Gesamtschwefelgehalt (ICP-OES) als auch den Oberflächenschwefelgehalt (REM-EDX) zu bestimmen. Sowohl die ICP- OES-Ergebnisse als auch die REM-EDX-Ergebnisse (Tabelle 12) zeigen deutlich, dass im Unterschied zu den PEIm-Polymeren in diesem Fall auch nach dem Waschschritt mit Wasser noch Schwefel nachgewiesen werden kann.

Polyvinylamin liefert somit in den Vorversuchen vielversprechende Ergebnisse für die weiteren Versuche.

Tabelle 12. Schwefelgehalt von Baumwoll- und Polyesterproben nach Ausrüstung mit PVAm-g-SB1 (DS = 60%) ermittelt mittels ICP-OES und REM-EDX.

Träger-material	Ausrüstungs-lösung	Wasch-schritt	ICP-OES	REM-EDX
PET	5 %	–	41.11 mg/g	2.33 %
PET	5 %	+	1.83 mg/g	1.42 %
PET	1 %	–	19.47 mg/g	1.73 %
PET	1 %	+	0.75 mg/g	1.14 %
BW	5 %	–	55.89 mg/g	2.87 %
BW	5 %	+	2.56 mg/g	1.61 %
BW	1 %	–	25.82 mg/g	2.01 %
BW	1 %	+	1.33 mg/g	1.26 %

4.5 Synthese und Charakterisierung von modifiziertem PVAm

Die Umsetzung des PVAm mit unterschiedlichen Mengen an Betainen erfolgte in wässriger, alkalischer Lösung bei erhöhter Temperatur von 90°C (Schema 3). Das Reaktionsgemisch wurde nach der Reaktion erst dialysiert, dann am Rotationsverdampfer eingeengt und abschließend Gefriergetrocknet.

Zu Beginn wurden vergleichende Versuche mit PVAm-Hydrochlorid und Lupamin® 9095 gemacht und zu evaluieren ob es möglich ist, für die nucleophile Addition direkt mit der günstigen, käuflichen Lupamin®-Lösung zu arbeiten, da es nicht wirtschaftlich wäre, alle Versuche mit aufgereinigter Lupamin®-Lösung oder sogar mit dem PVAm*HCl durchzuführen.

Wie in Kapitel 4.4.1 beschrieben hat das verwendete Lupamin® 9095 einen PVAm-Anteil von 7,5 %. Die übrigen 13,5 % Feststoffanteil stammen Nebenprodukten aus der Syntheseroute. Es muss folglich festgestellt werden ob diese Bestandteile die Reaktion beeinflussen und ob sich ein solches technisches Produkt eignet um einen gewünschten Substitutionsgrad genau einstellen zu können. Hierzu wurden identische Ansätze mit PVAm-HCl und Lupamin® 9095 gefahren. Angestrebt wurde ein Substitutionsgrad von DS=50.

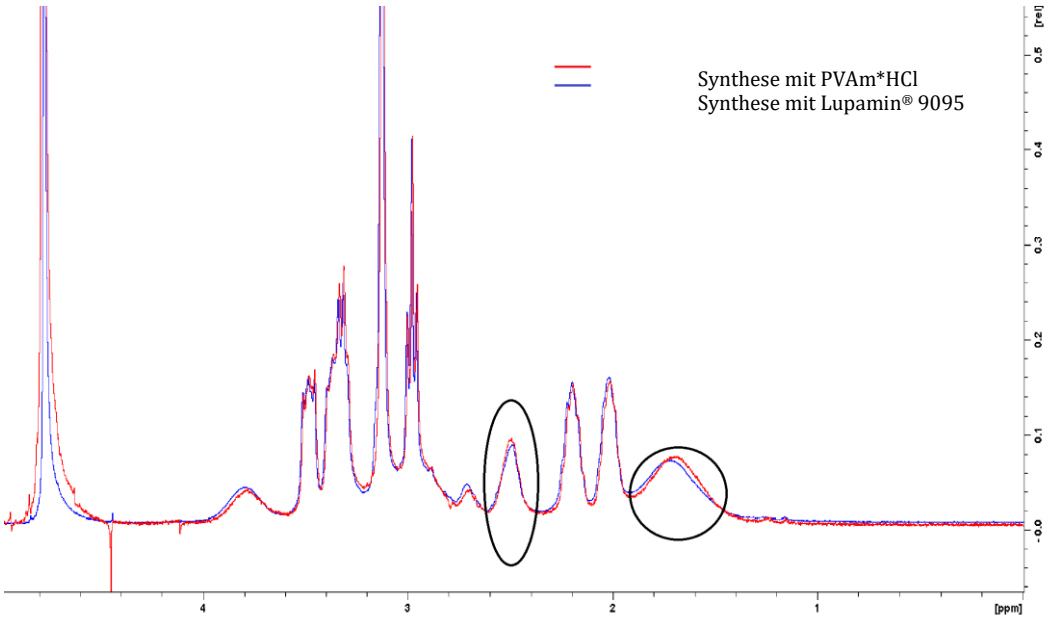


Abbildung 30: Vergleich der ^{1}H-NMR Spektren; Synthese mit Lupamin® 9095 (blau), Synthese mit PVAm*HCl (rot)

Abbildung 30 zeigt die übereinandergelegten ^{1}H-NMR Spektren der beiden Synthesen. Es ist direkt erkennbar, wie identisch die Spektren aussehen. Die beiden eingekreisten Signale, sind wie in Kapitel 3.1.1 beschrieben, die Signale, welche zur Berechnung des Substitutionsgrads herangezogen werden. Wird an Hand der Integrale der Grad der Substitution berechnet, ergibt sich für die Synthese mit PVAm*HCl ein DS = 47 % und für die Synthese bei der direkt die Lupamin® 9095 Lösung eingesetzt wurde ein minimal höherer Substitutionsgrad von DS = 49 %. Daraus lässt sich ableiten, dass der tatsächliche PVAm-Gehalt von der Lupamin®-Lösung wirklich bei etwa 7,5% liegt und dass alle anderen Bestandteile des Lupamins® die Reaktion von dem Sulfobetain mit dem Polyvinylamin nicht negativ beeinträchtigen.

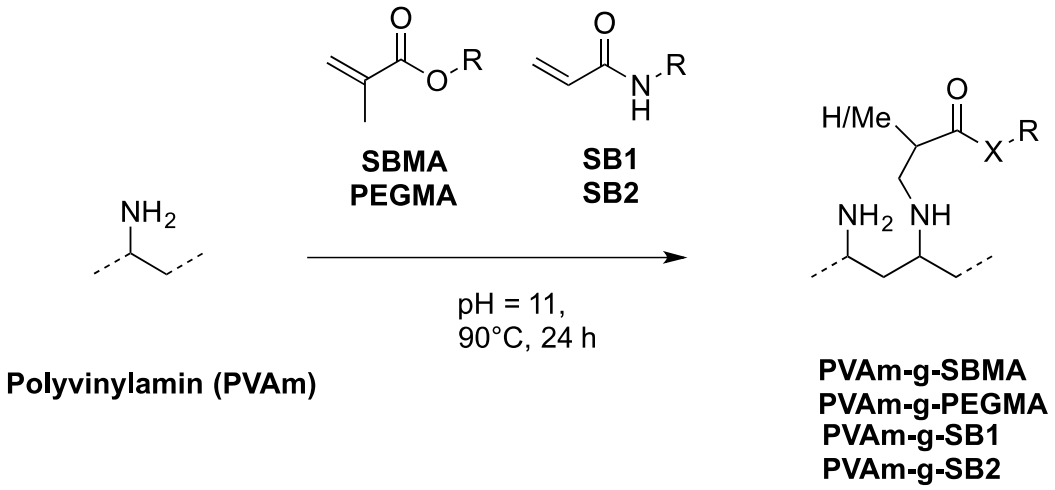
Für alle weiteren Versuche werden demzufolge die Synthesen direkt mit Lupamin® 9095 durchgeführt. Dies vereinfacht die Arbeit um ein Vielfaches. Außerdem lässt der beschriebene Versuch vermuten, dass die Umsetzung von Sulfobetain mit dem Polymer sehr gut steuerbar ist und das Sulfobetain vollständig abreagiert. Um diese These zu bestätigen wurde nochmals ein Ansatz mit hohem Substitutionsgrad DS=80% angesetzt. Am Ende wurde ein kleiner Teil der Reaktionslösung dialysiert, eingeengt und gefriergetrocknet und der andere Teil wurde lediglich eingeengt bevor von beiden ein ^{1}H-NMR aufgenommen wurde. Auf diese Weise konnte mittels des NMR‘s gezeigt werden, dass kein Sulfobetain mehr in der Reaktionslösung vorhanden war, da die Protonen der Acrylgruppe (wie in Kapitel 3.1.1 beschrieben) in keinem der beiden Spektrum nachgewiesen werden konnten. Das eingesetzte Sulfobetain muss demnach komplett abreagiert haben.

Zwischenfazit

In einem ersten Schritt ist es gelungen die verwendete Lupaminlösung näher zu charakterisieren und herauszufinden, wie hoch der Polymergehalt und der Feststoffanteil sind. In weiteren Versuchen konnte erfolgreich bewiesen werden, dass eine Reaktion mit reinem PVAm*HCl gegenüber der Lupaminlösung keinen Vorteil liefert, da bei identischen Ansatzmengen nahezu gleiche Substitutionsgrade erreicht werden. Dieses Ergebnis bestätigt ebenfalls, dass der angenommene Polymergehalt von 7,5% wirklich der Realität entspricht. Zum Schluss konnte die Aufarbeitung der Reaktion noch wesentlich vereinfacht werden, indem gezeigt wurde, dass eine Dialyse der Reaktionslösung mit anschließender Gefriertrocknung überflüssig ist, da die Reaktion

von Polyvinylamin mit Sulfobetain quantitativ abläuft. Dies ist ebenfalls ein erster Hinweis darauf, dass die Reaktion sehr gut steuerbar sein kann.

Nach den erfolgreich abgeschlossenen Vorarbeiten, wurden ebenfalls erste Kupplungsversuche mit verschiedenen (Meth-)Acrylaten durchgeführt. Zu Beginn wurden zunächst wieder die beiden käuflichen Methacrylate **SBMA** und **PEGMA** verwendet, um zu überprüfen, ob bei der Verwendung von PVAm mit Methacrylaten höhere Substitutionsgrade erzielt werden können. Darüber hinaus wurden **SB1** und **SB2** als Acrylat-Komponenten für die Michael-Addition verwendet.

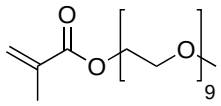
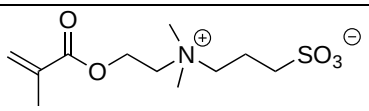
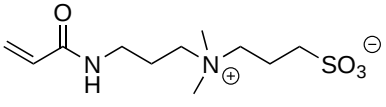
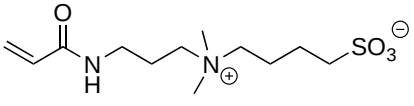


Schema 3. Allgemeines Reaktionsschema von PVAm mit (Meth-)Acrylaten.

Die Bestimmung des Substitutionsgrades erfolgte mittels NMR-Spektroskopie. Die Addition aller fünf Monomere an das PVAm war erfolgreich. Im Falle der Methacrylate konnten hier höhere Substitutionsgrade als bei der Verwendung von PEIm erreicht werden, so dass PVAm-Derivate mit einem DS von ca. 20% problemlos erhalten werden konnten. Bei Reaktionen mit höherem Molanteil, die zu DS>20% führen sollten, trat allerdings stets eine Gelierung der Reaktionslösung auf, sofern nicht in sehr verdünnten Lösungen arbeitete wird (< 0,1 Gew. % PVAm). Deshalb war es für diese Reaktionen nicht mehr möglich, den tatsächlichen DS-Wert zu bestimmen. Das eingelagerte Wasser im modifizierten Polymergel war sehr stark gebunden, so dass es nur äußerst schwer

wieder entfernt werden konnte. Für die wenigen Reaktionen, bei denen das Wasser halbwegs gut aus dem Polymernetzwerk entzogen werden konnte, war es jedoch dann unmöglich, ein NMR-Spektrum aufzunehmen, da das Polymer in Verbindung mit Deuteriumoxid wieder stark quoll, so dass es unmöglich war, ein gutes NMR aufzunehmen. Entweder konnte das gequollene Polymer nicht in ein NMR-Röhrchen überführt werden, oder, bei dem Versuch, das getrocknete Polymer direkt im Röhrchen abzuwiegen und dann das D2O hinzuzugeben, waren die Lufteinschlüsse zu stark um ein auswertbares Spektrum zu erhalten. Bei diesen Proben wurde lediglich eine Dialyse durchgeführt um zu überprüfen ob im Dialysewasser noch nicht reagiertes Monomer mittels ^{1}H-NMR gefunden werden konnte.

Tabelle 13. Substitutionsgrad von PVAm nach Michael-Addition.

Monomer	Kupplung erfolgreich	max. Substitutions-grad (DS)	Bemerkung
 **PEGMA**	✓	ca. 60%	starke Gelierung bei DS>20%; festes Gel bei DS>60%
 **SBMA**	✓	20%	sehr starke Gelierung bei DS>20%
 **SB1**	✓	>90%	–
 **SB2**	✓	>90%	–

Bei den PVAm-g-SBMA Derivaten konnte lediglich ein DS=20% erreicht werden. Bei Ansätzen mit mehr Monomer und auch längerer Reaktionszeit, wurde im Dialysewasser

immer noch Monomer gefunden, so dass davon ausgegangen werden muss, dass auch bei PVAm keine sehr hohen DS synthetisiert werden können. Bei der Verwendung von PEGMA kam es ebenfalls zu einer starken Gelierung, aber da konnte erst ab einem DS>60% Monomer im Dialysewasser identifiziert werden.

Die Reaktionen mit den beiden Acrylaten SB1 und SB2 lieferten dagegen PVAm-Derivate mit einem Substitutionsgrad bis nahezu 100%. Untersuchungen mit dem Acrylaten SB1 und SB2 zeigten zudem, dass auch hier der erzielte DS nahezu identisch mit dem eingesetzten Molverhältnis PVAm/SB1-Monomer war (Tabelle 14). Daher wurde im Folgenden auf eine Dialyse der Reaktionsmischung auch bei hohen Sustitutionsgraden verzichtet, da davon ausgegangen wurde, dass sich kein freies Monomer mehr in der Lösung befindet. Diese Annahme konnte durch ein ^{1}H-NMR-Spektrum bestätigt werden, welches nach beendeter Reaktion ohne weitere Aufreinigung der Reaktionslösung aufgenommen wurde. Es waren keine acrylischen Protonen von nicht reagiertem SB1 oder SB2 im Spektrum zu sehen. Zusätzlich konnte auch auf die Gefriertrocknung verzichtet werden, da schon nach dem Einengen ein festes Produkt erhalten wurde.

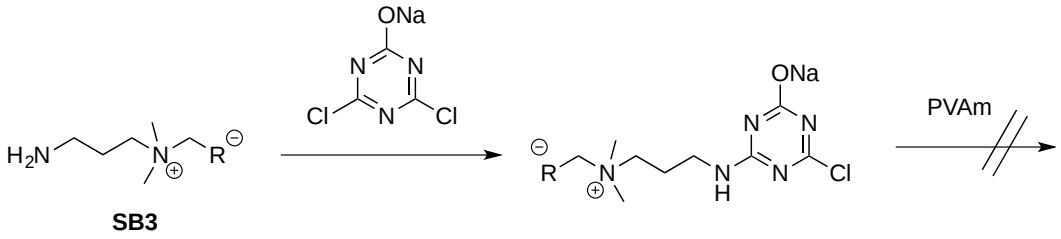
Tabelle 14. Eingesetzte Molverhältnisse und resultierender Substitutionsgrad bei der Reaktion von PVAm mit SB1.

Molverhältnis (PVAm/**SB**)	max. DS	DS ermittelt mittels ^{1}H-NMR **SB1** / **SB2**
1.00 : 0.20	20 %	18 % / 22 %
1.00 : 0.40	40 %	41 % / 40 %
1.00 : 0.60	60 %	57 % / 63 %
1.00 : 0.80	80 %	82 % / 79 %

4.5.1 Versuche zur Verwendung von Cyanurchlorid und Glutardialdehyd (GDA) als Anker zwischen Polyvinylamin und Betainen, die keine (Meth)Acrylate enthalten

Cyanurchlorid

Da die Herstellung der PVAm-Konjugate mit hohem DS bisher nur durch die Verwendung selbst synthetisierter Betaine gelungen ist (z.B. SB1 und SB2), wurde nach alternativen Umsetzungen unter Verwendung einfach zugänglicher Betaine gesucht, die nicht auf einer Michael-Reaktion beruhen. Ein Ansatz war die Kupplung des bereits hergestellten Intermediats SB3 (Schema 1) unter Verwendung eines Triazin-Linkers. Die Umsetzung von Cyanurchlorid Mononatriumsalz-Lösung erfolgte in zwei Schritten. Erst wurde zunächst eine äquimolare Menge an SB3 hinzugegeben und bei 60°C gerührt. Anschließend wurde eine 10 Gew.-%ige PVAm-Lösung hinzugegeben (Lupamin® 9095) und über Nacht nochmals unter Rückfluss gekocht.



Schema 4. Kupplung der Amino-Betaine SB3 mit PVAm unter Verwendung von Cyanurchlorid als Ankermolekül.

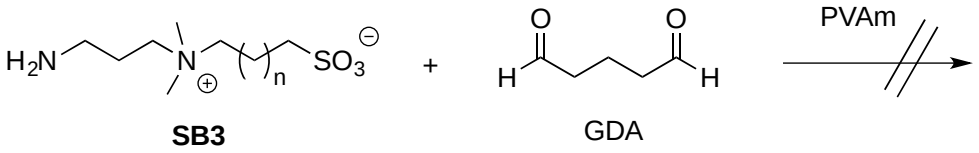
Im NMR-Spektrum konnte keine Reaktion festgestellt werden. Nach der Diaylse waren lediglich die Signale vom PVAm im Spektrum sichtbar.

Glutardialdehyd

Als weitere Möglichkeit wurde die Verwendung von Glutardialdehyd (GDA) als Linker untersucht, da dieses Reagenz bereits erfolgreich für die Verknüpfung von PVAm mit anderen Aminen genutzt werden konnte. Ein erster Versuch beinhaltete das einfache Mischen von Lupamin® 9095 mit GDA bei Raumtemperatur und Zugabe von äquimolaren Mengen (bezogen auf GDA) des Amino-Betains SB3. Allerdings bildete sich

direkt nach zusammengeben von PVAm und GDA ein festes Gel aus, das eine Weiterreaktion unterband.

Wurde alternativ zunächst die entsprechende Menge Betain zu einer wässrigen GDA-Lösung gegeben, war das Gemisch transparent und homogen gelöst. Sobald allerdings die Lupamin®-Lösung hinzugegeben wurde, bildete sich ebenfalls sofort ein festes Gel, das auch durch Zugabe von Wasser nicht mehr aufgelockert oder gelöst werden konnte.



SB3 GDA

Schema 5. Reaktion von PVAm mit SB3 und GDA als Anker

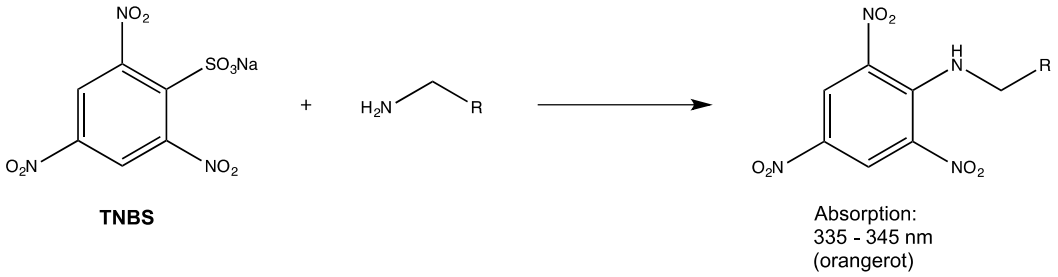
Da auf einfache Weise keine weiteren brauchbaren modifizierten PVAm-Derivate hergestellt werden konnten, wurde mit den PVAm-g-SB1 und PVAm-g-SB2 Derivaten weitergearbeitet.

4.6 Charakterisierung der ausgerüsteten Textilien

4.6.1 Visualisierung der freien Aminogruppen auf ausgerüsteten Geweben mittels TNBS-Färbung

Mit dem TNBS-Assay lassen sich selektiv primäre Aminogruppen anfärben. 2,4,6- Trinitrobenzolsulfonsäure (TNBS) reagiert hierbei mit primären Aminen zu einem orangeroten 2,4,6-Trinitroanilin, der bei 335–345 nm absorbiert (Schema 6). Das Anfärben lässt eine einfache visuelle Einschätzung der Zahl der primären Aminogruppen zu und erlaubt eine semiquantitative Bestimmung.

Der TNBS-Test ermöglicht so den Substitutionsgrad der verwendeten Ausrüstungspolymere direkt auf dem Textil zu visualisieren, da mit steigendem DS die Zahl der primären Aminogruppen und dementsprechend die Farbintensität abnimmt.



Schema 6. Allgemeines Reaktionsschema des TNBS-Assays.

Die Textilien, welche jeweils mit Lupamin® (1595 oder 9095) oder den modifizierten Polyaminen mit unterschiedlichem DS ausgerüstet wurden, wurden in die TNBS-Lösung gelegt und bei 80°C für 5 Minuten inkubiert. Anschließend wurden die angefärbten Gewebe ausgewaschen und visuell betrachtet.

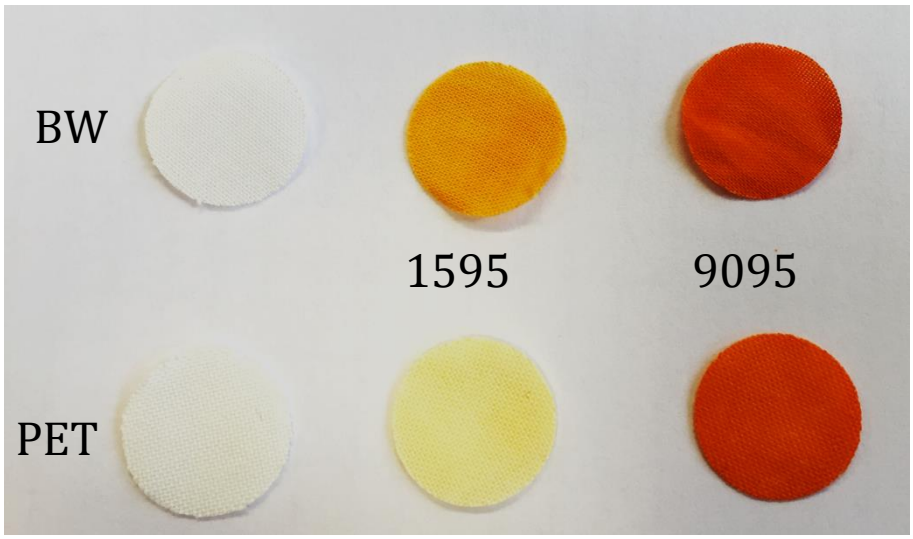


Abbildung 31. BW und PET ausgerüstet mit Lupamin® 1595 und 9095 bei pH = 9; anschließend TNBS-Färbung

Wie in Abbildung 31 zu erkennen ist, werden die unbehandelten Proben von BW und PET durch den TNBS-Farbstoff nicht angefärbt. Es sind wie erwartet keine freien Amine auf der Gewebeoberfläche. Werden diese Gewebe mit Lupamin® 1595 beschichtet, dann ist eine Gelbfärbung beim PET und eine Orangefärbung für BW zu sehen. Im Vergleich zu den unbehandelten Proben hat die Anzahl der freien Aminogruppen zwar zugenommen, insbesondere im Falle der PET-Probe scheint die Ausrüstung unter den gewählten

Bedingungen (pH 8, 1 Gew.%ige Lupamin® -Lösung, Fixiertemperatur 150°C) aber nicht zu hohen Massenauflagen zu führen. Bei der Verwendung des wesentlich langkettigere Lupamin® 9095 (M = 350.000 g/mol im Vergleich zu M < 10.000 g/mol), ist dagegen eine deutliche Dunkelorangefärbung beider Gewebe zu beobachten. Die Anzahl der freien Aminogruppen ist demnach um ein Vielfaches höher. Es kann davon ausgegangen werden, dass somit auch die Massenauflage bei der Beschichtung mit Lupamin® 9095 höher ist als bei der Beschichtung mit Lupamin® 1595. Auffällig ist, dass die Ausrüstung von BW im Vergleich zu PET effizienter verläuft. Das ist auf die Vorbehandlung mit Cyanurchlorid zurückzuführen, da so eine reaktivere Oberfläche erzeugt wird und sich leichter, an mehreren Stellen, eine kovalente Verknüpfung mit dem Polyamin ausbilden kann. Bei dem langkettigeren Lupamin® 9095 ist dieser Unterschied weniger signifikant als beim kurzkettigen Lupamin® 1595. Die ca. 35-fach größere Anzahl an primären Aminen in einer Polymerkette im Lupamin® 9095 scheint hier eine ausreichende Wahrscheinlichkeit für eine kovalente Verknüpfung bei der thermischen Fixierung auf PET zu gewährleisten.

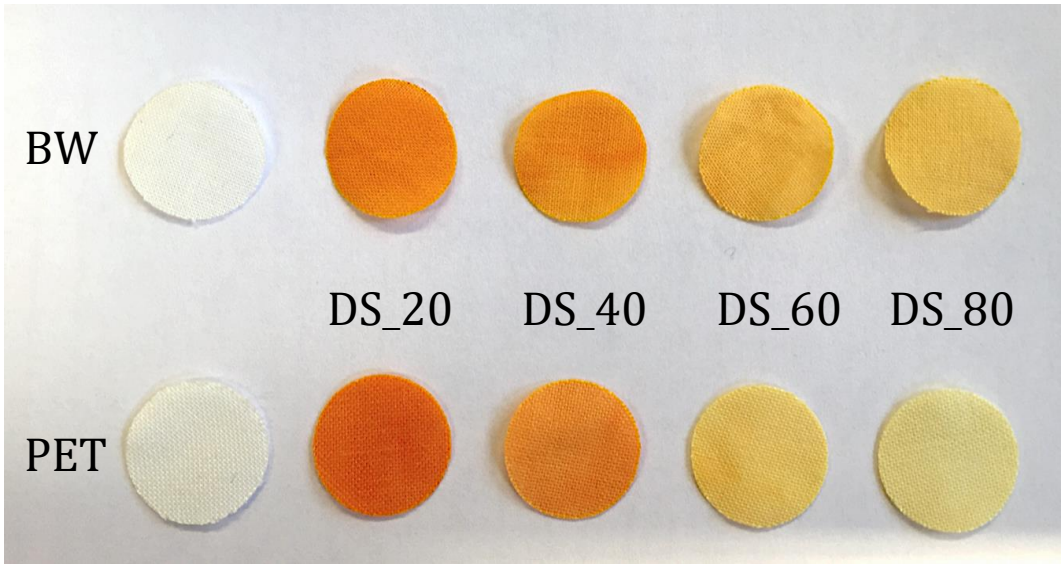


Abbildung 32. Oben: unbehandelte BW und ausgerüstete BW (mit PVAm-g-SB2) angefärbt mit TNBS; Unten: PET unbehandelt und ausgerüstet (mit PVAm-g-SB2), angefärbt mit TNBS (PVAm = Lupamin® 9095, bei pH = 9 ausgerüstet).

Wird PVAm-g-SB2 (aus Lupamin® 9095) mit unterschiedlichen Substitutionsgraden zum Ausrüsten von BW und PET verwendet, sollte sich der steigende DS auch bei der TNBS-Färbung bemerkbar machen. Abbildung 32 zeigt sehr deutlich diesen Zusammenhang

zwischen DS und primären Aminogruppen. Bei einem niedrigen DS von 20% resultiert eine dunkle Orangefärbung, die fast keinen Unterschied zu reinem PVAm erkennen lässt. Bei Zunahme des DS bis hin zu 80% nimmt die Färbung entsprechend der kleiner werdenden Anzahl primäre Amine kontinuierlich ab, sodass bei den höchsten DS der beiden Gewebe lediglich nur noch eine leicht gelbliche Färbung zu erkennen ist.

Die leichten Unterschiede der Färbung bei z.B. DS_20 zwischen BW und PET müssen nicht zwingend dadurch zustande kommen, dass auf PET mehr PVAm vorhanden ist. Es handelt sich bei um zwei völlig verschiedene Gewebe die sich unterschiedlich gut anfärben lassen und dadurch die Farbe bei PET deutlicher erscheinen kann als bei BW.

Proben mit PVAm-g-SB1 zeigen in der Färbung die gleichen Tendenzen wie die abgebildeten PVAm-g-SB2 Proben und sind deshalb hier nicht zusätzlich abgebildet.

4.6.2 Gravimetrische Bestimmung der Beladung

Zur quantitativen Bestimmung der Beladung wurde das Gewicht von Gewebestücken vor und nach dem Ausrüstungsschritt bestimmt. Die Gewebestücke wurden unter Normklima equilibriert und alle Experimente in dreifacher Wiederholung ausgeführt. Die relative Gewichtszunahme wurde nach folgender Gleichung berechnet, wobei m_1 und m_2 den Gewichten der Gewebestücke vor und nach der Ausrüstung entsprechen:

$$\text{relative Gewichtszunahme (\%)} = \frac{m_2 - m_1}{m_1} \times 100$$

Für die Ausrüstung von BW und PET mit PVAm-g-SB1 und PVAm-g-SB2 (1 Gew.%ige Polymerlösungen) mit jeweils unterschiedlichen DS wurde ebenfalls die Massenauflage bestimmt. Für die Beschichtung mit PVAm-g-SB1 (Abbildung 33) kann ein Maximum der Massenauflage für beide Gewebe bei einem DS von 60 % festgestellt werden. Bei noch weiter ansteigendem DS ist dann jedoch ein starker Abfall der Massenauflage zu beobachten. Dies kann auf die immer kleiner werdende Zahl an primären Aminogruppen beruhen, da diese für die jeweilige kovalente Verknüpfung mit dem Gewebe benötigt werden (Ausbildung von Amidbindungen bei PET bzw. Reaktion mit den Cyanurchlorid-Anker auf der BW-Oberfläche).

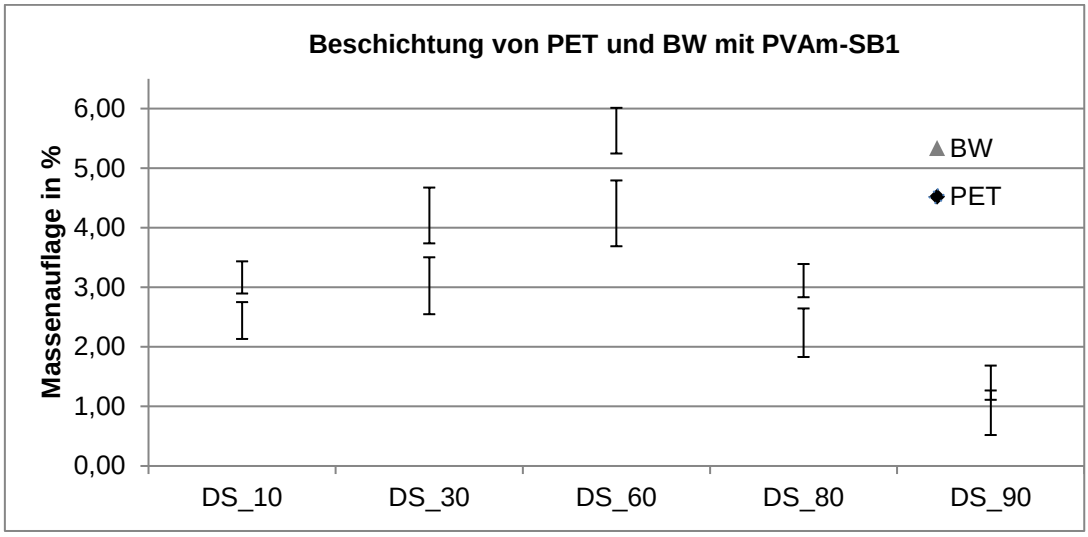


Abbildung 33. Massenauflage von beschichteter BW und PET mit PVAm-g-SB1. Mittelwert aus einer 4-fach Bestimmung

Im Gegensatz zu Beschichtungen mit PVAm-g-SB1 weisen die Beschichtungen mit PVAm- g-SB2 schon von Beginn an eine kontinuierlich geringer werdende Massenauflage mit steigendem DS auf (Abbildung 34). Der Wert für die Massenauflage bei einem DS von 80% ist insgesamt aber für die beiden Polymere im Falle des PET vergleichbar (ca. 3%), während für BW das SB2-basierte Polymer zu etwas geringeren Auflagen führt (1.3% gegenüber 2.2%).

Die Messung der Massenauflage gibt einen ersten Hinweis auf die Effizienz der Ausrüstung, allerdings kann mit dieser Methode nicht direkt die reine Polymerauflage bestimmt werden. Ziel des Projekts war es stark hydratisierte Oberflächen zu generieren. Daher kann davon ausgegangen werden, dass unter den gewählten Messbedingungen die Polymerauflage inklusive des eingelagerten Wassers gemessen wird. Es ist zudem auffällig, dass bei diesen Beschichtungen die Auflage der Polyesterproben meist höher ist als die der vergleichbaren BW Proben. Die Vorversuche zeigten, dass bei BW durch die Verwendung von Cyanurchlorid als Anker mehr Polymer auf die Faseroberfläche gebunden werden konnte (vgl. Tabelle 12). Dies könnte ein erster Hinweis sein, dass die Hydratation der neu generierten Oberfläche bei der Gravimetrie stark mit reinspielt. Um diesen Zusammenhang genauer zu untersuchen wurden im folgenden ICP-OES Messungen gemacht.

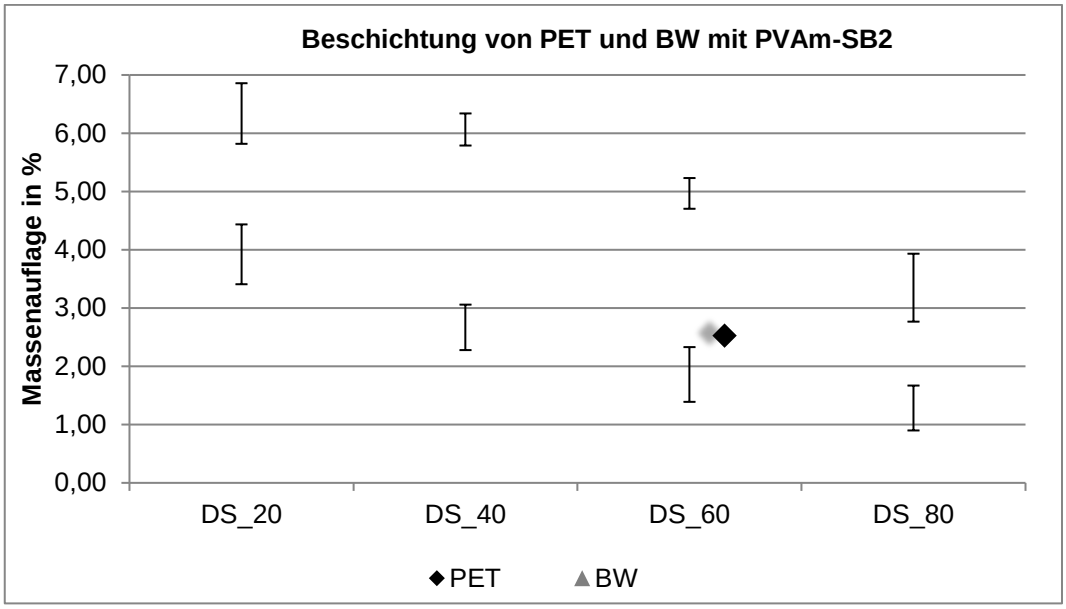


Abbildung 34. Massenauflage von beschichteter BW und PET mit PVAm-SB2. Mittelwert aus einer 4-fach Bestimmung

4.6.3 Induktiv gekoppelte Plasma Emissionsspektroskopie (ICP-OES)

Um die Beschichtung besser charakterisieren zu können und die genaue Polymerauflage zu bestimmen, wurden von den beschichteten Proben ICP-OES-Messungen durchgeführt. Diese Methode erlaubt eine quantitative Bestimmung von verschiedenen Elementen in textilen Proben. Da die in diesem Projekt aufgebrachten Beschichtungen Schwefel enthalten und in den Proben sonst kein Schwefel vorhanden ist, wurde der Schwefelgehalt bestimmt. Für diese Messungen müssen das Rohgewebe und die ausgerüsteten Proben erst aufgeschlossen werden. Die ICP-OES Messungen wurden danach bei der DTNW ÖP GmbH durchgeführt.

Anders als die reine Massenauflage hängt der Schwefelgehalt vom Substitutionsgrad DS ab, da Schwefel nur in den Betain-Seitenketten vorkommt. Werden die Ausrüstungsversuche, bei denen immer dasselbe PVAm-Derivat benutzt wurde verglichen, so sollte der Schwefelgehalt direkt mit der Massenauflage korrelieren. Andererseits ist beim Vergleich von Ausrüstungspolymeren mit unterschiedlichem DS zu berücksichtigen, dass z.B. die Polymere mit DS = 10% einen deutlich geringeren Schwefelanteil aufweisen als Polymere mit DS = 80%.

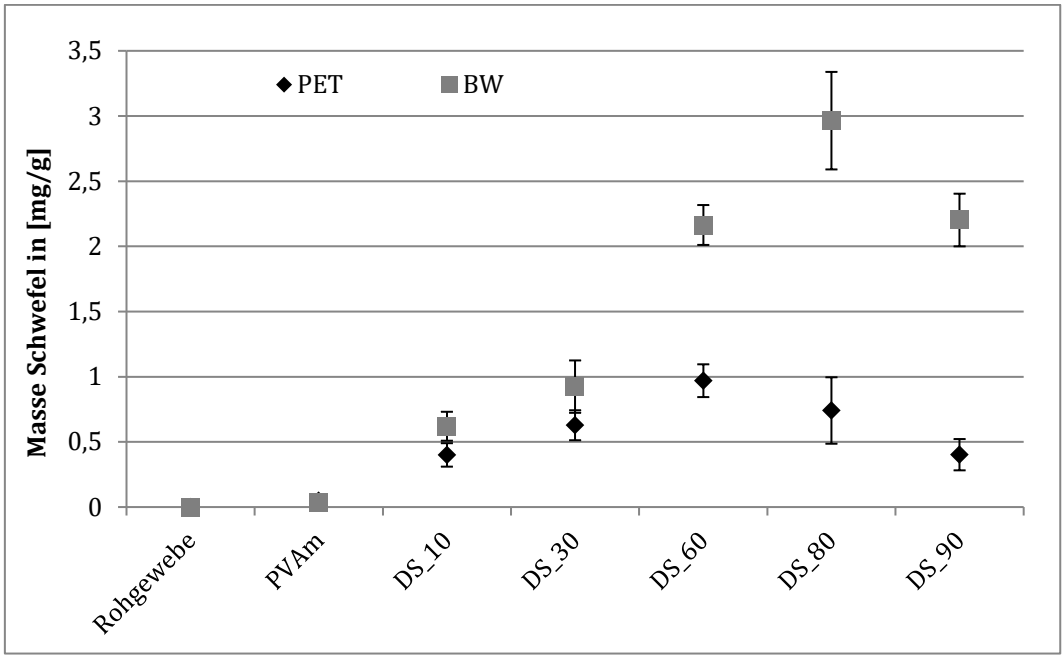


Abbildung 35. Ergebnisse der ICP-Messungen der BW- und PET-Proben, welche mit PVAm-g-SB1 ausgerüstet wurden. Mittelwert aus einer 3-fach Bestimmung

Bei den Referenzgeweben und bei den nur mit PVAm beschichteten Geweben wurde wie erwartet kein Schwefel gefunden (vgl. Abbildung 35 und Abbildung 36).

Sowohl für PVAm-g-SB1 als auch für PVAm-g-SB2 ist der Schwefelwert für die BW-Proben bei allen DS höher als für die entsprechenden PET-Proben. Dies ist, wie auch schon im Abschnitt 4.6.2 erläutert, auf das Cyanurchlorid als Anker zurückzuführen.

Für die mit PVAm-g-SB1 ausgerüsteten BW-Proben ist bei der Bestimmung des Schwefelgehalts zu Beginn, wie erwartet, ein Anstieg des Schwefelgehalts mit steigendem SG zu erkennen. Steigt der SG allerdings weiter kann bei allen Proben zum Ende hin wieder ein Abfall der Schwefelmenge beobachtet werden. Das lässt drauf schließen, dass die Massenauflage bei den Proben mit hohen DS (DS>60%) sehr niedrig ist, da in diesen Proben die Schwefeldichte am höchsten ist.

Wie im Kapitel 4.6.2 schon kurz erklärt wurde, wird mit der gravimetrischen Bestimmung nicht nur die Massenauflage des Polymers bestimmt, sondern auch die Masse des eingelagerten Wassers mitbestimmt.

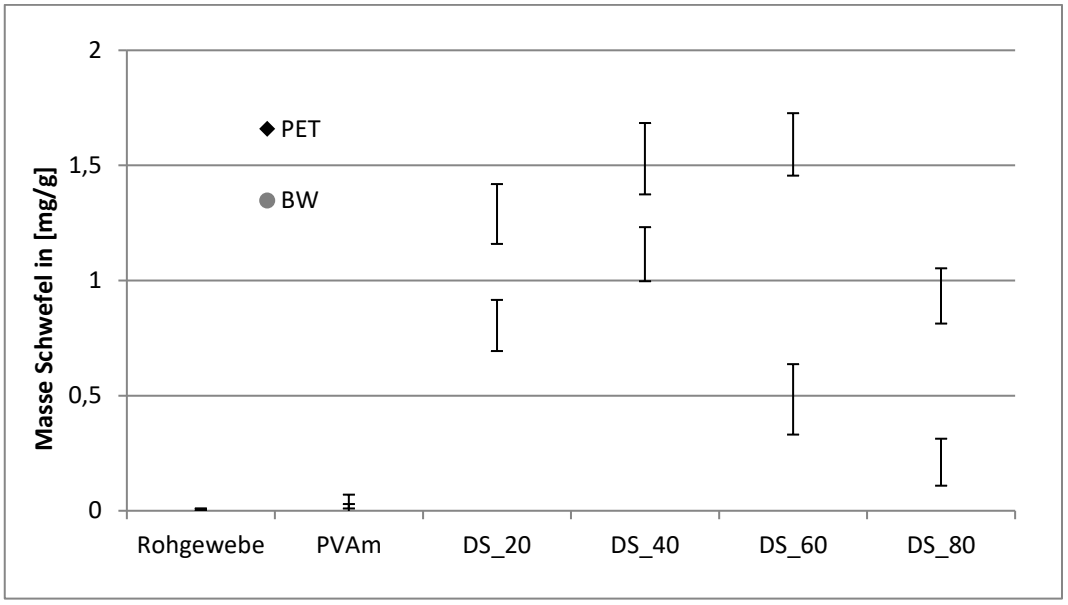


Abbildung 36. Ergebnisse der ICP Messungen der BW- und PET-Proben, welche mit PVAm-SB2 ausgerüstet wurden. Mittelwert aus einer 3-fach Bestimmung.

Mit den ICP-Ergebnissen ist es nun möglich die genaue Massenauflage des Polymers zu ermitteln und diese mit den in Kapitel 4.6.2 erhaltenen Ergebnissen zu vergleichen und so die Masse des eingelagerten Wassers zu ermitteln. Dieses wird exemplarisch für die PVAm-SB2-Derivate gemacht. Dafür muss zuerst aus den erhaltenen Schwefelmassen (m) die dazugehörige Stoffmenge (n) ausgerechnet werden:

$$n\,(Schwefel) = \frac{m\,(Schwefel)}{M\,(Schwefel)}$$

Um von der n (S) auf m (Polymer) schließen zu können wird für jeden Substitutionsgrad DS die durchschnittliche molare Masse ($M_{ø}$) des Polymers pro Wiederholungseinheit benötigt. Diese wurde mit Hilfe von ChemDraw ermittelt.

DS = 20 $M_{ø}$ = 101.7 g / mol

DS = 40 $M_{ø}$ = 160.2 g / mol

DS = 60 $M_{ø}$ = 218.7 g / mol

DS = 80 $M_{ø}$ = 277.2 g / mol

Mit der $M_{Ø}$ (Polymer) kann durch folgende Formel jetzt m (Polymer) berechnet werden:

$$m\,(Polymer) = \frac{n\,(Schwefel) * M_{Ø}\,(Polymer)}{\frac{DS}{100}}$$

DS/100 gibt hierbei das Verhältnis von schwefelhaltigen Wiederholungseinheiten zu nicht schwefelhaltigen Wiederholungseinheiten an.

Tabelle 15. Übersicht der Massenauflagen Polymer und der Masse des eingelagerten Wassers

DS	m (S) in [mg/g]	n (S) in [mmol/g]	m (Polymer) in mg/g Textil	Massenauflage Polymer in %	Massenauflage gesamt - Massenauflage Polymer in %	m (Wasser) in mg/g Textil
PET						
20	0.805	0.025	12.71	**1.27**	5.07	**50.7**
40	1.144	0.035	14.01	**1.40**	4.66	**46.6**
60	0.483	0.015	5.46	**0.55**	4.42	**44.2**
80	0.210	0.0065	2.25	**0.23**	3.12	**31.2**
BW						
20	1.288	0.040	20.34	**2.03**	1.89	**18.9**
40	1.529	0.047	18.82	**1.88**	0.78	**7.8**
60	1.591	0.050	18.22	**1.86**	0.47	**4.7**
80	0.933	0.029	10.04	**1.00**	0.28	**2.8**

Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass die Massenauflage des Polymers sehr gering ist und mit steigendem DS weiter abnimmt. Vor allem bei den Polyesterproben ist die Masse des

aufgebrachten Polymers sehr klein, so dass es nur zu Auflagen von 0.2 % bis max. 1.3 % kommt. Die restlichen 3 % bis 5 % der gravimetrisch bestimmten Gesamtmassenauflag werden durch die stark hydratisierte Oberfläche, welche Wasser auf der Oberfläche der Beschichtung einlagert, verursacht. Bei den PET Proben ist deutlich zu erkennen, dass das Potential des Polymers, Wasser einzulagern, mit steigendem DS steigt. Da PET Gewebe normalerweise hydrophob ist, ist der Effekt der erzeugten Oberfläche, mit betainhaltigen Polymeren eine stark hydratisierende Oberfläche zu generieren, äußerst gut nachzuweisen. BW hingegen ist von Natur aus sehr hydrophil und lagert unter Normalbedingen schon viel Wasser ein, so dass der gewünschte Effekt nicht auf diese Weise nachgewiesen werden kann.

Optimierung der Fixierzeit

In der Praxis lassen sich Fixierzeiten von 8 min kaum realisieren, da in technischen Verfahren in einem Spannrahmen fixiert wird, in dem das zuvor konditionierte Gewebeband durch einen Ofen läuft. Die Laufgeschwindigkeit lässt sich dabei nur bedingt verlangsamen, sodass die Fixierzeiten für industrielle Anlagen bei ungefähr maximal 2–3 min liegen. Aus diesem Grund wurde in Laborexperimenten die zeitabhängige Effizienz der Ausrüstung genauer untersucht, wobei als Maß für die Polymerfixierung der über ICP ermittelte Schwefelgehalt diente.

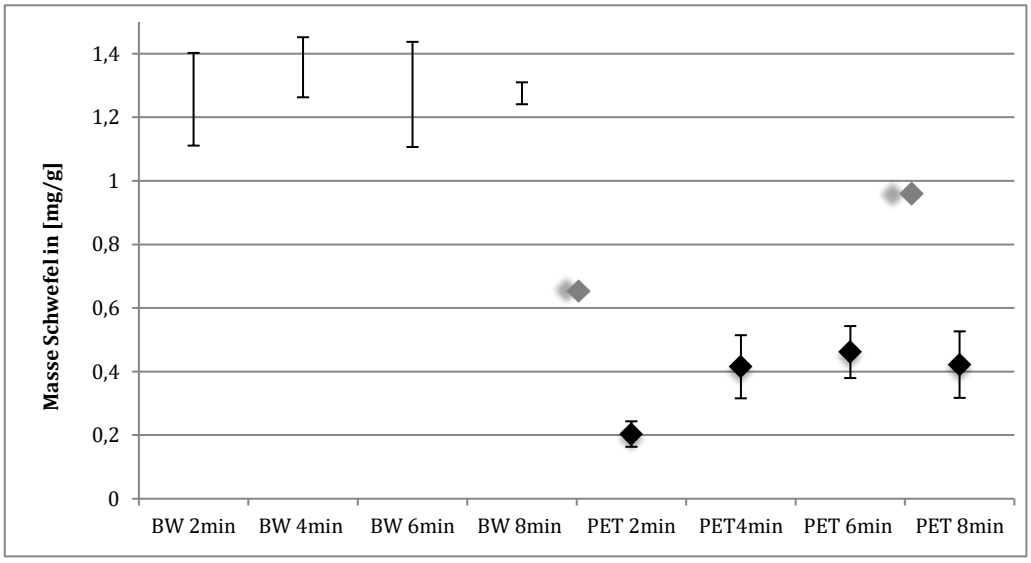


Abbildung 37. Schwefelgehalt von PVAm-SB2_60@BW und PVAm-SB2_60@PET bei unterschiedlichen Fixierzeiten.

Im Rahmen dieser Experimente wurde nochmals PVAm mit SB2 und einem DS von 60 % synthetisiert (PVAm-g-SB2_60) und sowohl BW als auch PET mit PVAm-g-SB2_60 (1 Gew.%ige Lösungen) ausgerüstet. Fixiert wurde für 2, 4, 6 und 8 Minuten. Anschließend wurde gründlich gewaschen und der Schwefelgehalt der Proben mittels ICP-OES bestimmt.

In Abbildung 37 sind die ICP-Ergebnisse dargestellt. Für BW steigt der Schwefelgehalt mit längerer Fixierzeit nicht an. Nach 2 Minuten werden schon 1.25 mg Schwefel / g Textil nachgewiesen und nach 8 Minuten hat sich der Wert nur auf 1.27 mg Schwefel gesteigert, was innerhalb der Fehlerbalken liegt und der Unterschied somit nicht signifikant ist. Die Ergebnisse für die PET Proben zeigen, dass hier nach 2 min nur vergleichsweise wenig Schwefel (ca. 0.20 mg) auf dem Textil vorhanden ist. Durch längeres Fixieren wird bereits nach 4 min die doppelte Schwefelmenge von (0.41 mg Schwefel/g Textil) erreicht. Noch längeres Fixieren erhöht diesen Wert jedoch nicht weiter.

Somit konnte gezeigt werden, dass für BW-Proben schon nach 2 Minuten und für PET-Proben nach 4 Minuten nahezu maximale Schwefelwerte erreicht werden können, die als Maß für die Ausrüstungseffizienz dienen. Um jedoch eine genaue Aussage über notwendige Fixierzeiten treffen zu können, sind die Ergebnisse der Protein- und Bakterienadhäsion (Kapitel 4.7.1, 1044.7.2 und 4.7.3) sowie der antibakteriellen Tests (Kapitel 4.7.4) zu berücksichtigen da die Menge an fixiertem Polymer nicht proportional zu der antiadhäsiven und antibakteriellen Wirkung der Oberflächen sein muss.

Verwendung von Lupamin® 1595 und Ausrüstung bei zwei pH-Werten

Abschließend wurde untersucht ob eine Ausrüstung mit dem modifizierten kurzkettigen PVAm (Lupamin® 1595) möglich ist. Dazu wurde das Lupamin® 1595 analog zum Lupamin® 9095 mit SB2 umgesetzt. Die angestrebten DS lagen bei 20%, 50% und 80%. Außerdem wurde sowohl im basischen (pH=9) als auch im sauren Milleu (pH=5). Die Proben wurden anschließend mittels Mikrowellenaufschluss aufgeschlossen und der Schwefelgehalt per ICP-OES gemessen.

Abbildung 38 sind die Ergebnisse dargestellt. Während bei der Verwendung von Lupamin® 9095 für PET Schwefelmassen von 0,2-1,1 mg/g ermittelt wurden

(vgl. Abbildung 36), liegen die Werte für die Ausrüstung mit Lupamin® 1595 lediglich bei 0,01 - 0,03 mg/g Textil. Da der Arbeitsbereich der ICP-OES bei Konzentrationen zw. 01 mg/L – 1000 mg/L liegen sollte, befinden wir uns bei den PET Proben mit 0,2 mg/L gerade noch im Arbeitsbereich. Die erhaltenen Werte sind aber bis ums 36-fache niedriger als die vergleichbaren Werte mit Lupamin® 9095. Das liegt daran, dass die molare Masse mit 340.000 g/mol auch wesentlich höher ist als die vom kurzkettigen Lupamin® 1595 (ca. 10.000 g/mol). Würde theoretisch davon ausgegangen werden, dass die Anzahl der reagierten Amine gleichbleibt und an jeder Polymerkette nur ein Amin reagiert, würde alleine durch das erhöhte Molekulargewicht die 34-fache Menge an Polymer an die Oberfläche binden. Von daher sind die überaus niedrigen Werte für die Beschichtung mit Lupamin® 1595 gar nicht so verwunderlich.

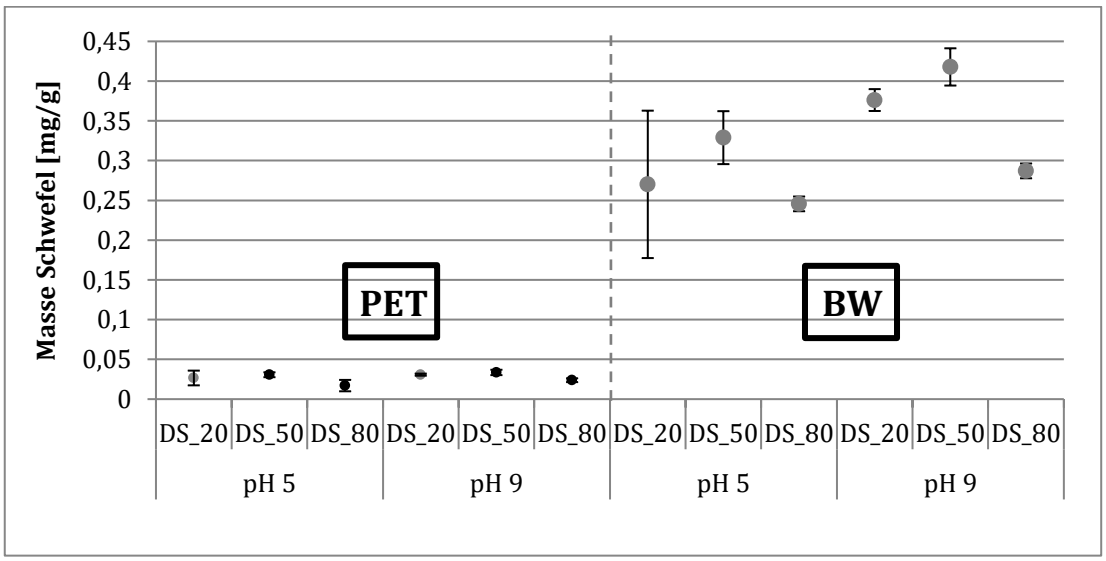


Abbildung 38: ICP Ergebnisse der beschichteten PET- und BW-Proben mit PVAm(1595)- g-SB2 bei pH 5 und pH 9

Die Werte von BW mit Lupamin® 1595 sind wesentlich höher (0,24 mg/g - 0,42 mg/g) aber liegen deutlich unter den entsprechenden Werten der Lupamin® 9095 Beschichtungen (0,9 mg/g - 1,6 mg/g).

Bezüglich der verschiedenen pH-Werte bei denen die Textilstücke konditioniert wurden, kann kaum ein großer Unterschied festgestellt werden. Werden nur die Mittelwerte betrachtet sieht es so aus, als würde bei einer Ausrüstung im alkalischen etwas mehr Polymer an die Faseroberfläche gebunden werden können. Allerdings liegt dieser minimale Unterschied bei den PET-Proben innerhalb des Fehlerbalkens und ist damit nicht relevant. Bei den BW-Proben weisen die bei pH 5 konditionierten Proben

durchweg eine etwas geringere Schwefelmasse auf. Der Unterschied liegt aber lediglich bei 0,05 mg/g - 0,1 mg/g.

Mit diesen Versuchen konnte eindeutig gezeigt werden, dass eine Ausrüstung mit dem kurzkettigen Lupamin® 1595 wenig effektiv ist als eine Ausrüstung mit Lupamin® 9095. Bei dem gleichen Einsatz an gleicher Menge Polymerlösung, kann nur ein kleiner Bruchteil von dem Polymer genutzt werden, um es kovalent an die Oberfläche zu binden. Somit ist es, vor allen für die Ausrüstung von PET Proben, wesentlich sinnvoller ein Polymer mit einer höheren Molmasse, und damit verbunden eine längere Kettenlänge, zu verwenden. Der pH-Wert bei dem ausgerüstet wird, scheint nur eine untergeordnete Rolle zu spielen. Die gemessenen Schwefelmengen bei einer alkalischen Konditionierung sind nicht signifikant höher als bei einer Ausrüstung bei pH 5. Da die Lupaminlösung bereits einen leicht alkalischen Ausgangs-pH-Wert von 8-9 aufweist, da PVAm ein kationisches Polymer ist, ist es effizienter mit der reinen Lupaminlösung zu arbeiten, ohne noch einen pH-Wert einstellen zu müssen.

4.6.4 Carboxylgruppenbestimmung bei PET

Das PET Gewebe verfügt über einen sehr geringen Anteil an endständigen Carboxylgruppen. Diese können mit Methylenblau angefärbt werden. Diese Färbung kann entweder visuell betrachtet werden, sofern die Färbung stark genug ist, oder durch photometrische Bestimmung quantitativ ausgewertet werden, indem der Farbstoff mit Essigsäure wieder ausgewaschen wird.

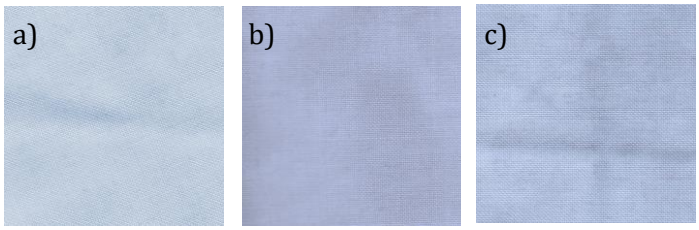


Abbildung 39: Methylenblaufärbung der PET Rohgewebe a) PET extrahiert b) PET Korona-behandelt c) PET UV-behandelt

Durch die Vorbehandlung von PET Gewebe mit UV oder Korona, sollte theoretisch die Menge an Carboxylgruppen auf dem Gewebe ansteigen. Schon visuell kann erkannt werden, dass die Blaufärbung bei den beiden vorbehandelten PET Proben etwas

ausgeprägter ist als beim Rohgewebe. Für die Koronabehandelte Probe ist die Blaufärbung nochmals deutlicher zu erkennen als bei der UV bestrahlten. Auch die photometrische Bestimmung des wiederabgelösten Methylenblaus bestätigt dies. Die Stoffmenge steigt von 0,08 µmol/g (PET) über 0,10 µmol/g (UV) bis zu 0,12 µmol/g (Korona) an. Das bedeutet, dass die Carboxylgruppenmenge um 50% gesteigert werden konnte. Damit sollte auch die Reaktivität der Oberfläche zunehmen.

Durch die anschließende Beschichtung mit PVAm oder auch PVAm-g-SB sollte die Menge der Carboxylgruppenanzahl abnehmen. Dies kann durch die Messung bestätigt werden (vgl. Tabelle 16). Bei der Ausrüstung mit PVAm ist auffällig, dass bei der Verwendung von dem hochmolekularen Lupamin 9095 die verbleibende Anzahl an Carboxylgruppen deutlich niedriger ist, als bei der Verwendung des niedermolekularen Lupamin 1595. Entweder werden durch die Ausrüstung mit dem langkettigen Lupamin 9095 die nicht reagierten Carboxylgruppen vom PVAm so stark maskiert und verdeckt, dass diese nicht mehr mit Methylenblau reagieren können, oder das langkettige Lupamin bindet an mehreren Stellen kovalent an der Textiloberfläche als das kurzkettige Lupamin 1595.

Tabelle 16: Carboxylgruppenbestimmung mit Methylenblau

	Stoffmenge in µmol/g Gewebe
PET	0,08 ± 0,01
PET_Korona	0,12 ± 0,01
PET_UV	0,10 ± 0,00
PET_Lupamin9095	0,02 ± 0,01
PET_Lupamin1595	0,06 ± 0,02
PET_PVAm-g-SB2_20	0,03 ± 0,00
PET_PVAm-g-SB2_40	0,04 ± 0,01
PET_PVAm-g-SB2_60	0,04 ± 0,00
PET_PVAm-g-SB2_80	0,06 ± 0,01

Wird PET im weiteren Verlauf mit dem modifizierten PVAm (Lupamin 9095) ausgerüstet, ist zu erkennen, dass mit steigendem DS auch die Anzahl der verbleibenden Carboxylgruppen auf der Oberfläche wieder zunimmt. Dies ist dadurch zu erklären, dass

durch die Reaktion mit dem Sulfobetain potentiell reaktive Aminogruppen schon abreagiert sind und dadurch die Reaktivität des PVAm den Carboxylgruppen gegenüber deutlich verringert wird.

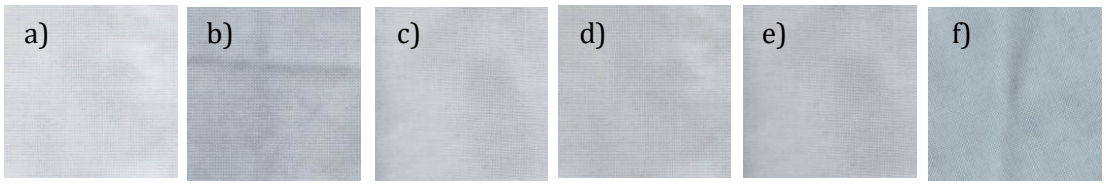


Abbildung 40: Methylenblaufärbung der ausgerüsteten PET Proben; a) Lupamin 9095 b) Lupamin 1595 c) - f): PVAm-g-SB2 mit DS=20 (c) DS=40 (d) DS=60 (e) DS=80 (f)

4.6.5 REM

Sowohl von den Rohgeweben als auch von den ausgerüsteten und gewaschenen Textilien wurden REM-Aufnahmen gemacht. In Abbildung 41 sind die Bilder für PET und BW und für eine Ausrüstung mit PVAm-g-SB2_60 dargestellt.

Der Unterschied zwischen den PET und den BW Proben ist deutlich erkennbar. Bei PET sind die einzelnen Fasern sehr rund, glatt und recht gleichmäßig. BW hingegen ist eine Naturfaser und die Oberfläche deshalb wesentlich ungleichmäßiger und rauer.

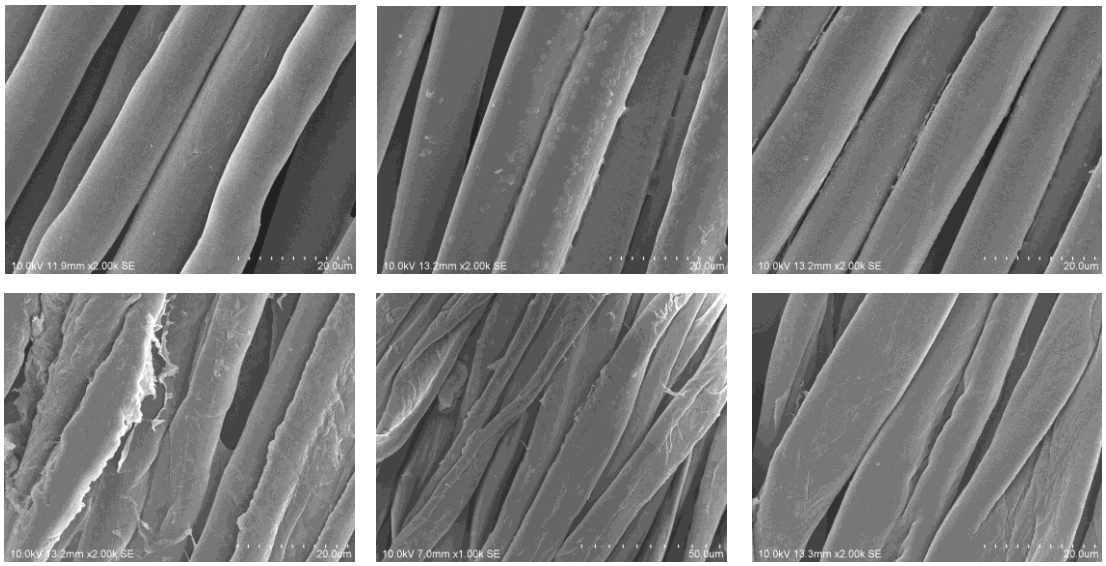


Abbildung 41: PET (oben) und BW (unten); Rohgewebe (links); ausgerüstet (mitte); gewaschen (rechts)

Es ist gut zu erkennen, dass direkt nach der Ausrüstung die Fasern mit Polymer ummantelt wurden. Bei ausgerüsteten PET Proben ist im REM die Polymerschicht deutlich zu erkennen. Vor allem die Faserzwischenräume zeigen deutlich vorhandenes Polymer auf. Der Verlust an Polymer durch das waschen mit ECE Waschmittel kann auch im REM erkannt werden. Nach dem Waschen wirken die Fasern wieder etwas glatter und auch die Polymermenge in den Faserzwischenräumen wurde deutlich reduziert.

Das Erscheinungsbild der BW-Fasern wirkt nach der Beschichtung deutlich ebener als vor der Beschichtung. Es kann demnach davon ausgegangen werden, dass sich ein dünner Polymerfilm um die einzelnen Fasern gelegt hat. Ein wirklicher Unterschied zwischen der ungewaschenen und der gewaschenen Probe konnte allerdings auf den REM-Bildern nicht erkannt werden.

4.6.6 Digitalmikroskop

Verschiedenen BW und PET Proben, welche mit Lupamin 9095 ausgerüstet und mit TNBS gefärbt wurden, wurden unter einem Digital Mikroskop betrachtet um Aussagen über die Gleichmäßigkeit der Beschichtung treffen zu können. Bei den PET Proben wurden sowohl UV Vorbehandelte, Plasmabehandelte und nur extrahierte Proben ausgerüstet um zu untersuchen ob eine Vorbehandlung die Ausrüstung verbessert.

Die Referenzgewebe, welche ebenfalls in die TNBS-Lösung inkubiert wurden, weisen auf den Aufnahmen keine gelbliche Färbung auf, was bedeutet, dass auf der Oberfläche keine Amingruppen zu finden sind (vgl. Abbildung 42 und Abbildung 44).

In Abbildung 42 ist hingegen deutlich zu erkennen, dass die Ausrüstung der BW mit PVAm relativ gleichmäßig ist. Die komplette BW ist orange gefärbt und die Fasern sind weitestgehend komplett eingefärbt, was bedeutet, dass überall dort Amingruppen vom PVAm vorhanden sind. Dort wo ein Faserstrang über einen anderen Faserstrang verläuft ist die Färbung besonders intensiv, was zeigt, dass diese Areale Orte hoher PVAm Dichte sind. Auch ist nicht zu erkennen, dass dort, wo sich die Faserstränge kreuzen besonders viel PVAm gebunden ist, was ein Hinweis darauf ist, dass durch den Waschvorgang direkt nach dem Fixieren überschüssiges PVAm gut entfernt werden konnte.

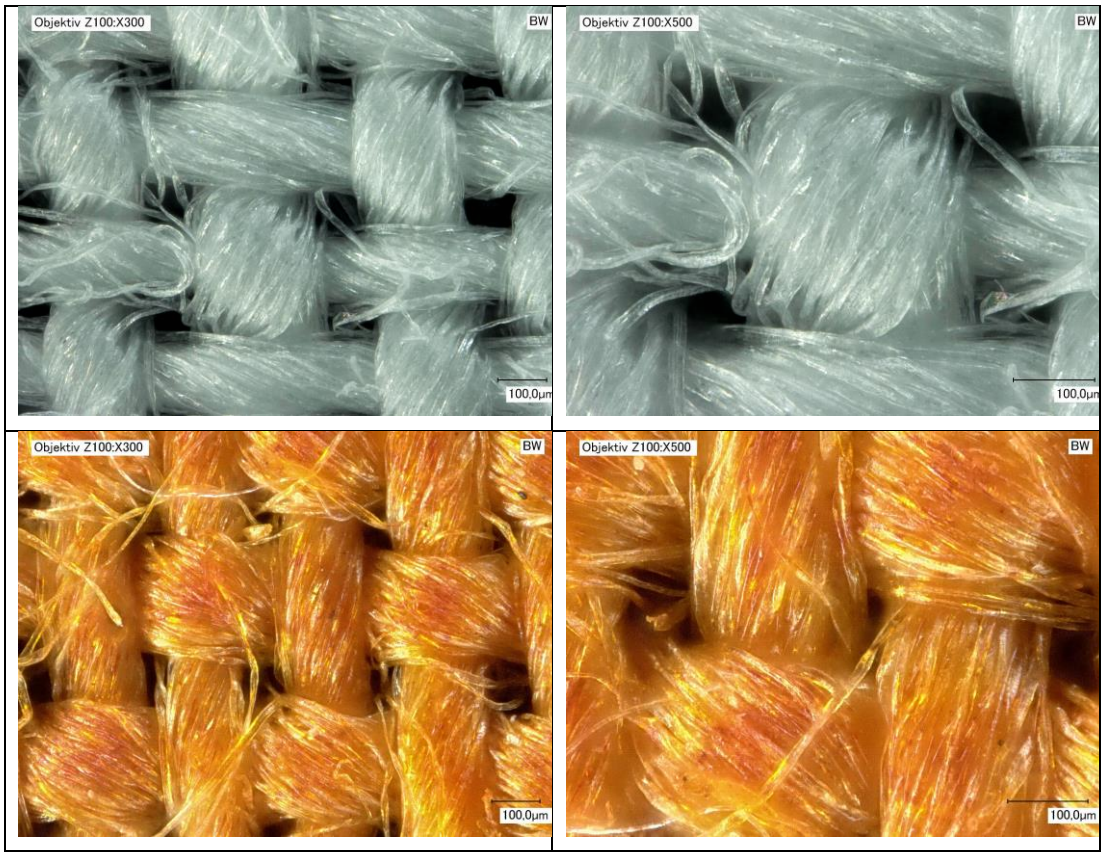


Abbildung 42: Unbeschichtete (oben) und beschichtete (unten) BW unter dem Digital Mikroskop bei zwei verschiedenen Vergrößerungen

Im Gegensatz zu der Ausrüstung von BW mit PVAm ist die Ausrüstung von PET mit PVAm nicht flächendeckend und gleichmäßig. Bei einer 100-fachen Vergrößerung wirkt die Ausrüstung noch sehr gleichmäßig, weil die komplette Probe durchweg gelb erscheint. Bei einer 500-fachen Vergrößerung hingegen ist deutlich erkennbar, dass die Beschichtung nicht durchgehend, sondern eher punktuell ist. Viele Fasern sind größtenteils sogar gar nicht gefärbt, was bedeutet, dass dort überhaupt kein PVAm gebunden ist. Die Färbung ist auf den Faserknäulen am stärksten. Dort ist gut erkennbar, dass die PVAm Bereiche nicht durchgehend sind, sondern immer nur lokale Ansammlungen von 5-20 µm sind.

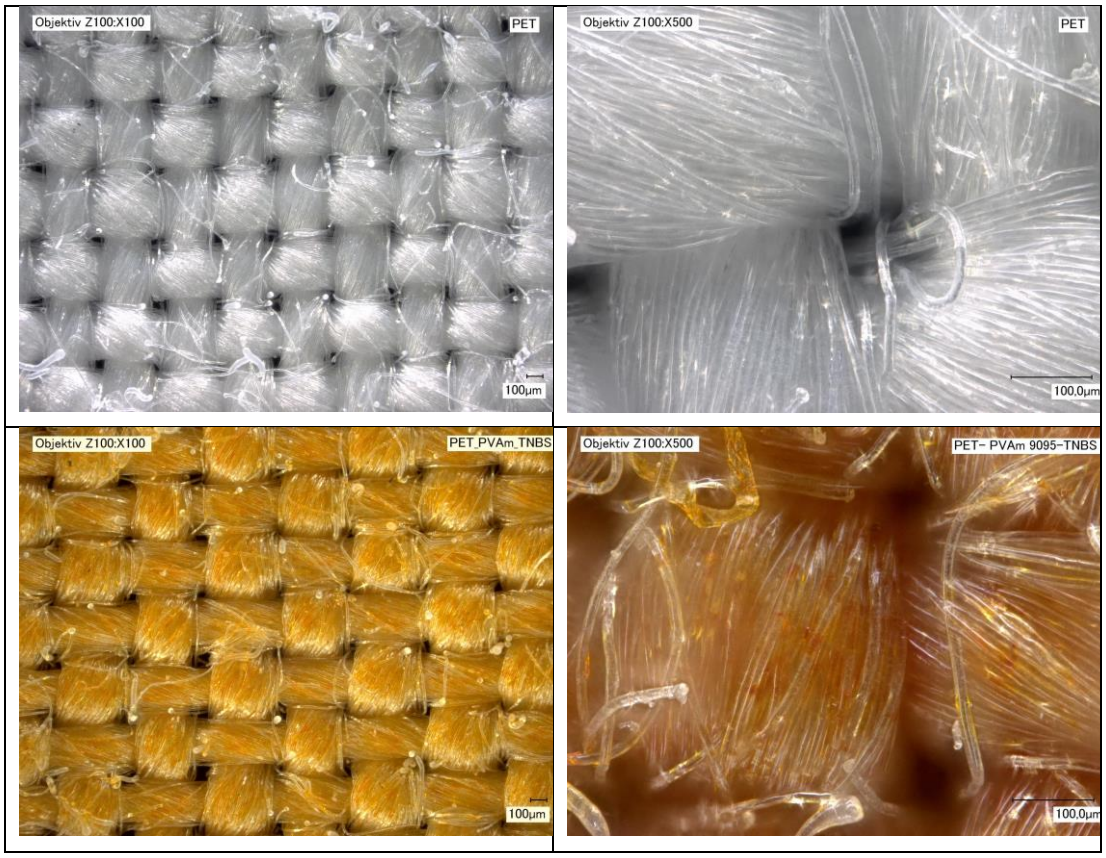


Abbildung 43: PET ausgerüstet mit Lupamin 9095

Das ist darauf zurückzuführen, dass PET hydrophob ist und deshalb nur schwer mit wässrigen Lösungen benetzt werden kann. Es kann demnach von einer „Zwangsbenetzung“ gesprochen werden. Durch die hohen Temperaturen beim Trocknen und Fixieren kommt es durch den Wasserentzug wieder zu einer „Entnetzung“ da das hydrophile PVAm versucht die Kontaktfläche zum hydrophoben PET zu minimieren. In Folge dessen zieht es sich zusammen und die Beschichtung auf der Oberfläche ist inhomogen.

Mittels verschiedener Vorbehandlungen wurde untersucht ob es möglich ist eine gleichmäßigere Ausrüstung zu erreichen. In einem ersten Versuch wurde der Ausrüstungslösung ein Tensid (Marlipal O13/60; 1mL) hinzugefügt um die Oberflächenspannung herabzusetzten. In zwei weiteren Versuchen wurde das PET vorher mit einer UV-Breitbandlampe bestrahlt oder mit Kaltplasma behandelt um die Hydrophilie des textilen Flächengebildes zu erhöhen und mehr reaktive Gruppen für die kovalente Bindung zu generieren. In Abbildung 44 sind die entsprechenden Mikroskopaufnahmen der Färbungen zu sehen.

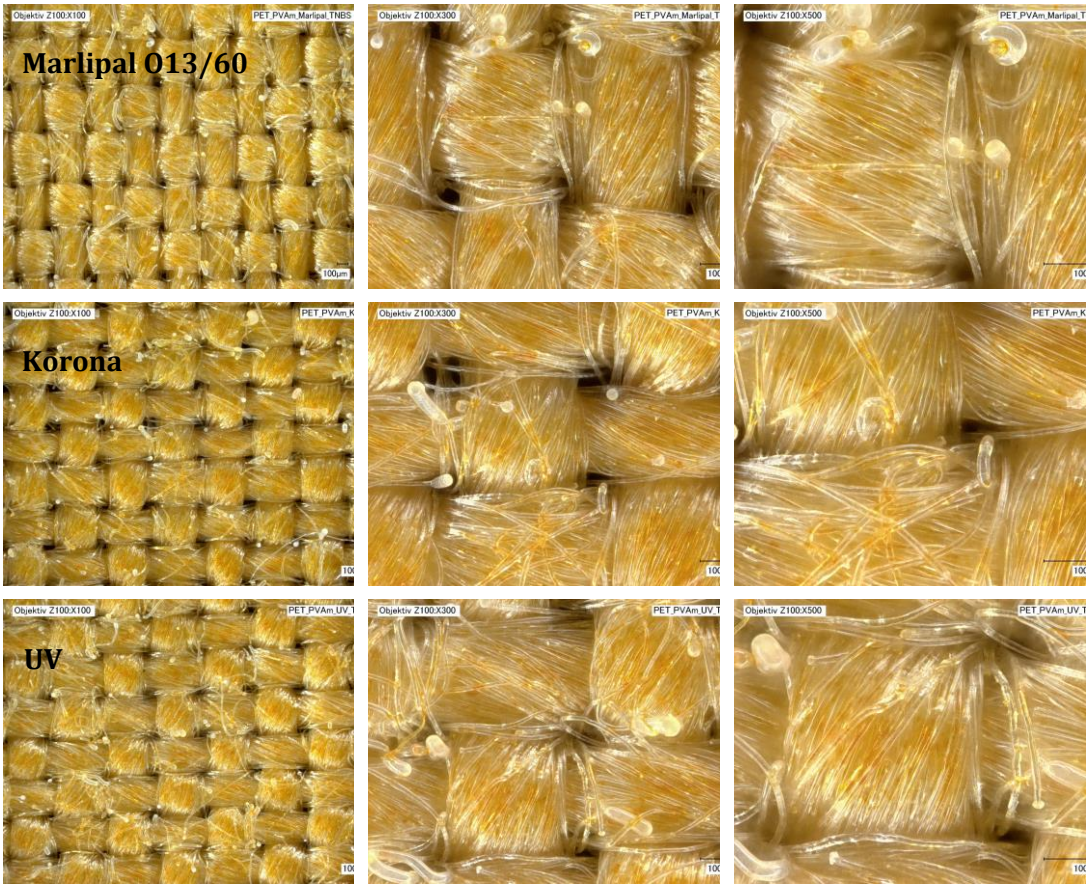


Abbildung 44: PET Vorbehandlung mit Marlipal (oben), Korona (mitte) und UV-Bestrahlung (unten)

Es ist gut zu erkennen, dass die drei verschiedenen Varianten sich nicht unterschieden. Auch ist keine Verbesserung zu einer direkten Ausrüstung, ohne Tensid als Zusatz oder Vorbehandlung, zu erkennen. Die Beschichtung bleibt sehr inhomogen und es sind weiterhin viele Fasern dabei, welche über einen größeren Bereich gar nicht modifiziert wurden und vereinzelte Bereiche, vermehrt auf den Faserknäulen, wo vermehrt PVAm gebunden ist. Da es für industrielle Anwendungen immer von Vorteil ist die Anzahl der Arbeitsschritte gering zu halten um Kosten zu sparen, wurde für alle weiteren Versuche auf eine Vorbehandlung verzichtet, da diese auch keine Verbesserung der Beschichtung darstellten.

4.6.7 Plattendiffusionstest

Eine Möglichkeit um bei antimikrobiell wirksamen Proben einen ersten Hinweis zu bekommen, ob alles was auf dem Textil an Polymerauflage vorhanden ist, auch kovalent gebunden ist, ist der Plattendiffusionstest.

Getestet wurden sowohl BW und PET, welche mit PVAm-g-SB2 ausgerüstet worden sind. Als Referenz wurde eine nicht beschichtete Probe in eine Lupamin 9095 Lösung inkubiert, abgequetscht und nicht fixiert. Polymer, welches nicht kovalent an der Faser gebunden ist, kann in die Agarplatte diffundieren. Handelt es sich dann um ein antimikrobielles Polymer, wie bei PVAm, bildet sich um die textile Probe ein Hemmhof aus. In diesem Bereich ist der Agar klar, was bedeutet, dass sich dort der E. coli nicht vermehren konnte.

Abbildung 45: Plattendiffusiontest von verschiedenen PET und BW Proben. (1) Rohgewebe; (2) PVAm; (3) PVAm-g-SB2_20; (4) PVAm-g-SB2_40; (5) PVAm-g-SB2_60; (6) PVAm-g-SB2_80; (7) PVAm nicht fixiert

In Abbildung 45 sind die beiden Agarplatten abgebildet. Es ist gut zu erkennen, dass sowohl bei den PET als auch bei den BW Proben nur ein Hemmhof bei der Probe in der Mitte entstanden ist. Die Probe in der Mitte ist jene, welche mit PVAm behandelt, aber nicht fixiert wurde. Bei dieser Probe ist das PVAm demnach nicht fest auf dem Textil geblieben, sondern konnte in den Agar diffundiert, so dass in einem kleinen Bereich um die Probe herum, keine E. coli wachsen konnten. Bei allen anderen Proben hingegen ist kein Hemmhof entstanden, was darauf hindeutet, dass das Polymer sehr fest an der Faser gebunden ist. Wobei fraglich ist, ob die Proben mit einem hohen DS noch antimikrobiell wirksam sind, das heißt, ob sich bei den Proben überhaupt ein Hemmhof ausbilden würde, auch wenn etwas von dem Polymer in den Agar diffundiert. Hier müssen also noch weitere Tests zur Beständigkeit der Beschichtung gemacht werden, auch wenn der

Plattendiffusionstest ein guter Test zur ersten Einschätzung ist, wie fest das Polymer auf der Faseroberfläche gebunden ist.

4.7 Charakterisierung der Eigenschaften der ausgerüsteten Proben

4.7.1 Bestimmung der Proteinadhäsion

Das Hauptanliegen der Arbeiten lag darin eine antiadhäsive Beschichtung zu erzeugen, die das Anhaften von Mikroorganismen unterbindet. Da die Proteinadhäsion an Oberflächen oft als Maß für die Bakterienadhäsion dienen kann und dieser Prozess einfacher zu untersuchen ist, wurde dieser Prozess als erstes untersucht. Um die Proteinadhäsion im Labor quantifizieren zu können, wurde hierfür in Zusammenarbeit mit der Hochschule Niederrhein ein neuer Test entwickelt, der die einfache und schnelle Bestimmung von textilen Proben erlaubt.

In den meisten bekannten Testsystemen wird Rinderalbumin (BSA, von engl. bovine serum albumin) als Protein verwendet, dessen Adhäsion untersucht wird. Da allerdings bei der gängigen Quantifizierung von BSA mittels verschiedener Tests, wie zum Beispiel des BCA-Assays, reduzierende Zucker (Mono-, Di- oder Oligosaccharide) störende Substanzen sind und das Ergebnis verfälschen, musste eine Alternative gesucht werden. Die Wahl fiel auf Lipase, da dieses Enzym in der Lage ist, Fluoresceindiacetat (FDA) zu Fluorescein zu spalten. Bei Fluoreszein handelt es sich um einen Fluoreszenzfarbstoff, der bei Anregung mit blauem Licht (Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von 496 nm, z. B. durch einen Argon-Ionen-Laser) grünes Licht (Wellenlänge ca. 520 bis 530 nm) abgibt. Diese Emission kann mit Hilfe eines Fluoreszenzplattenreaders gemessen werden.

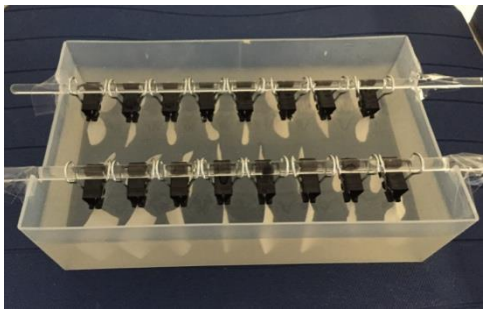


Abbildung 46. Probeninkubation in Lipaselösung

Bei dem neu entwickelten Test wurden von den textilen Proben kleine Stanzlinge (d = 1.5 cm) angefertigt und in eine Lipaselösung (1 g/L in Phosphatpuffer) gehängt.

Nach 30-minütiger Inkubation auf dem Schüttler wurden die Proben mit FDA versetzt. und die Menge des entstandenen Fluoresceins als Maß für die Menge der adsorbierten Lipase anhand der Fluoreszenzintensität bestimmt. Für alle Proben wird mind. eine 4- fach Bestimmung gemessen.

Die verschiedenen gemessenen Intensitäten bei den textilen Proben können danach ins Verhältnis gesetzt werden. Dabei wird immer der Wert für die nicht ausgerüsteten Textilien auf 100% normiert.

Messung der freien Lipase

Um zu ermitteln ob der Lipasetest mit dem FDA als Substrat ein geeigneter Test zur Überprüfung des Adhäsionsverhalten ist, wird erst eine Konzentrationsreihe der freien Lipase untersucht. Dazu wurde eine Stammlösung von der Lipase mit 2g/L in Phosphatpuffer angesetzt. Diese wurde mit Phosphatpuffer verdünnt, so dass folgende Konzentrationen entstanden:

2 g/L	Masse Lipase in 50µL: 100µg
1 g/L	Masse Lipase in 50µL: 50µg
0,75 g/L	Masse Lipase in 50µL: 37,5µg
0,50 g/L	Masse Lipase in 50µL: 25µg
0,25 g/L	Masse Lipase in 50µL: 12,5µg
0,125 g/L	Masse Lipase in 50µL: 6,25µg
0,0125 g/L	Masse Lipase in 50µL: 0,625µg

Für die erste Messung wurde die höchste und eine niedrige Konzentration im Plattenreader vermessen um zu überprüfen ob passende Bedingungen für den Test gewählt wurden. Von diesen Konzentrationen wurden dann 50µL in 500µL Puffer pipettiert und die entstandene Fluoreszenz über einen Zeitraum von 20 Sekunden gemessen.

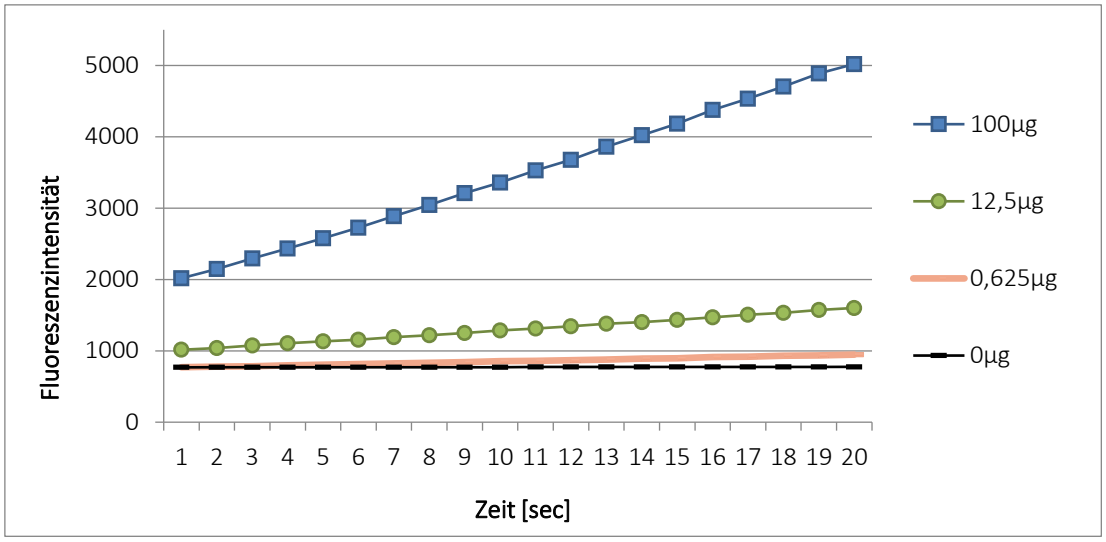


Abbildung 47: Kinetikkurven der freien Lipase mit FDA als Substrat

Wichtig ist, dass zu einem Zeitpunkt gemessen wird in dem die Substratsättigung noch nicht eingesetzt hat, das heißt im Bereich der exponentiellen Phase. Es ist zu sehen, dass mit steigender Lipasemenge die Fluoreszenzintensität über die Zeit zunimmt. Auch bei der hohen Lipasemenge ist ein Anstieg der Fluoreszenz zum Ende hin noch zu erkennen, was bedeutet, dass noch keine Substratsättigung eingetreten ist. Bei der Blindprobe, in der nur der Puffer (ohne Zusatz von Lipase) mit FDA versetzt wurde ist hingegen kein Anstieg der Fluoreszenz zu sehen. Anschließend wurde die komplette Konzentrationsreihe sowohl nach 10 als auch nach 16 Sekunden gemessen (vgl. Abbildung 48). Der linearen Anstieg der Fluoreszenz mit steigender Konzentration ist sehr schön zu erkennen. Auch weist die Konzentrationsreihe nach 16 Sekunden höhere Werte auf, als nach 10 Sekunden, da in dieser Zeit mehr FDA durch die Lipase umgesetzt werden konnte. Die Korrelationskoeffizienten liegen beiden bei 0,99 und sind somit sehr ähnlich.

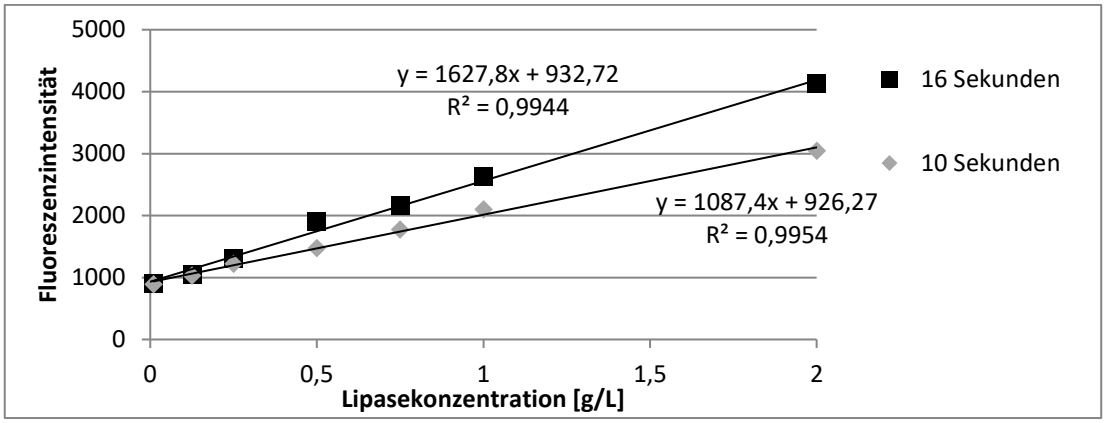


Abbildung 48: Konzentrationsreihe der freien Lipase

Im nächsten Schritt wurden unbehandelte BW und PET Proben mit einem Durchmesser von 1,5cm in die 24-Well Platte gelegt und jeweils 50µL der einzelnen Konzentrationen auf die Textile Probe pipettiert. Nachdem weitere 500µL Puffer hinzugegeben wurden, wurde die Platte direkt in den Plattenreader geschoben, wo das FDA hinzugefügt wurde und nach 10 Sekunden die Fluoreszenz gemessen. Auf diesem Weg sollte nachgestellt werden, ob es überhaupt einen linearen Anstieg der Fluoreszenz gibt, wenn die Lipase zusätzlich noch mit Textil in Kontakt kommt.

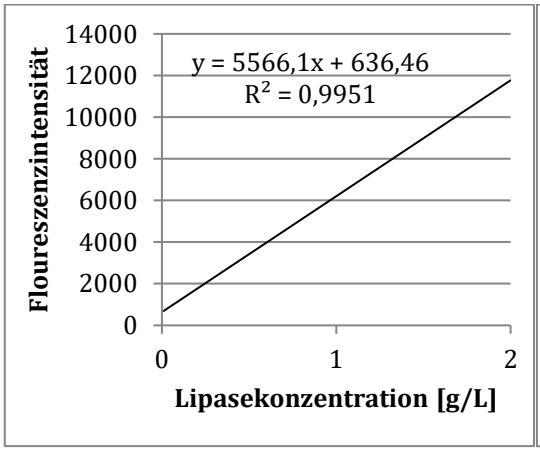


Abbildung 49: Kalibrationskurve BW

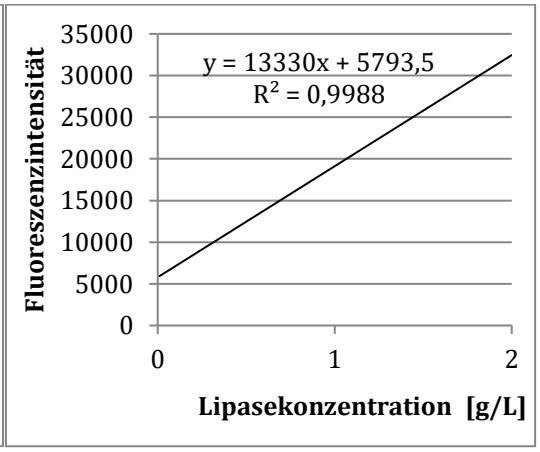


Abbildung 50: Kalibrationskurve PET

Auf dem ersten Blick fällt direkt auf, dass die Fluoreszenzintensitäten wesentlich höher sind, als bei der Vermessung der freien Lipase (siehe Abbildung 49 und Abbildung 49). Dies hängt mit der Grenzflächenaktivierung der Lipase zusammen. Lipasen besitzen das charakteristische Merkmal, dass die katalytische Triade nicht an der Oberfläche, sondern in einer Tasche liegt, die von einem „Deckel" (*lid*) verschlossen ist. Dieser Deckel besteht bei der Lipase aus *Candida rugosa* aus einer α-Helix und ist nach außen hin hydrophil.

Durch den Kontakt mit einer (hydrophoben) Grenzfläche kommt es zu einer Konformationsänderung und das *lid* öffnet sich, so dass das Substrat besser ins katalytische Zentrum eindringen kann. Da das Äußere des Deckels hydrophil ist und das Innere hydrophob, ist die Öffnung des *lids* in wässrigen Systemen thermodynamisch nicht begünstigt. Gut zu erkennen, ist das in Abbildung 51 [132] [133].

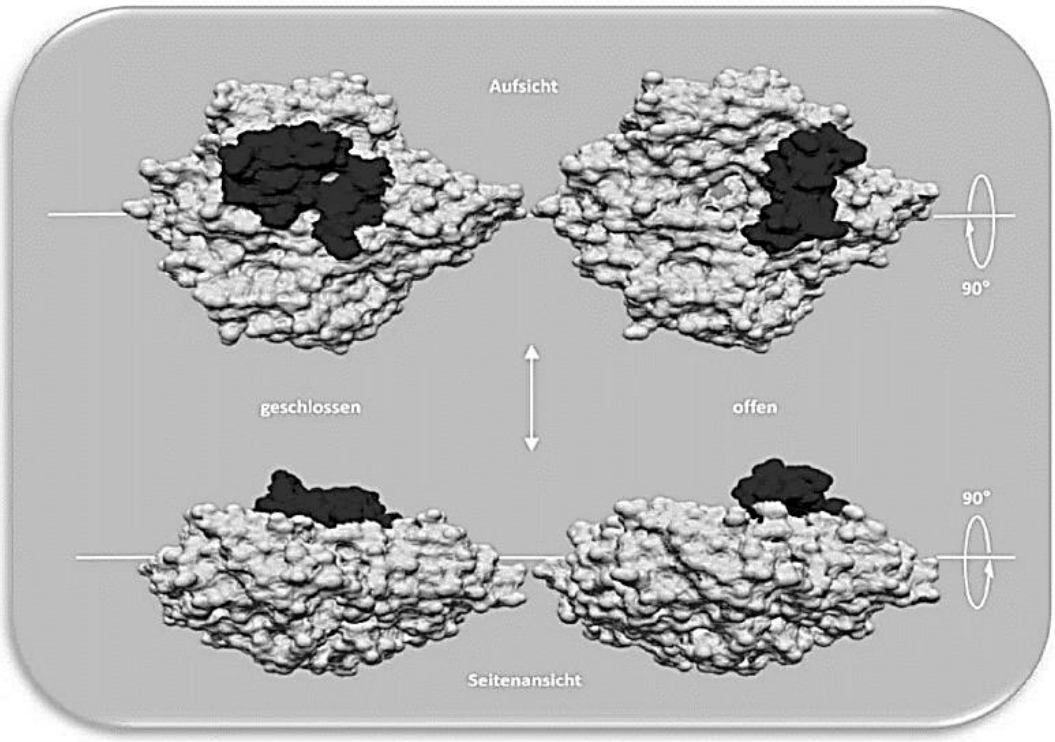


Abbildung 51: Konformationsänderung der Lipase aus *Candida rugosa* nach Kontakt mit einer Substrat / Wasser-Grenzfläche [134]

In den Diagrammen ist auch zu erkennen, dass die Fluoreszenzintensitäten bei gleicher Lipasemenge auf dem PET mind. doppelt so hoch sind wie die vergleichbaren Werte bei den BW Proben. Dies ist ebenso auf den eben beschriebenen Effekt der Grenzflächenaktivierung zurückzuführen. Es kann ein linearer Anstieg festgestellt werden mit einem guten Korrelationskoeffizienten (0,99). Der entwickelte Lipasetest zur Überprüfung der Proteinadhäsion liefert somit beste Voraussetzungen für die Tests an den unbehandelten und beschichteten Proben.

PVAm-g-PEGMA

Zu Beginn wurden Proben gemessen, die mit PVAm-g-PEGMA ausgerüstet sind um einen Vergleich zu bekommen, wie effizient die PVAm-Betain-Derivate sind. Diese Proben dienen demnach als Positivkontrolle, da aus der Literatur, wie schon beschrieben, bekannt ist, dass solche Verbindungen starke antiadhäsive Eigenschaften besitzen (64) (65) (66).

Da sich die Synthese dieser PVAm-g-PEGMA Derivate auf Grund der Gelierung bei DS > 20% als schwierig erwies, wurden die Untersuchungen der Lipaseadhäsion lediglich mit DS = 5% und DS = 20% durchgeführt. Ebenfalls wurde auch ein Derivat, welches wegen der Gelierung nicht mehr eindeutig charakterisiert werden konnte, allerdings ca. DS = 60% besitzen sollte, getestet.

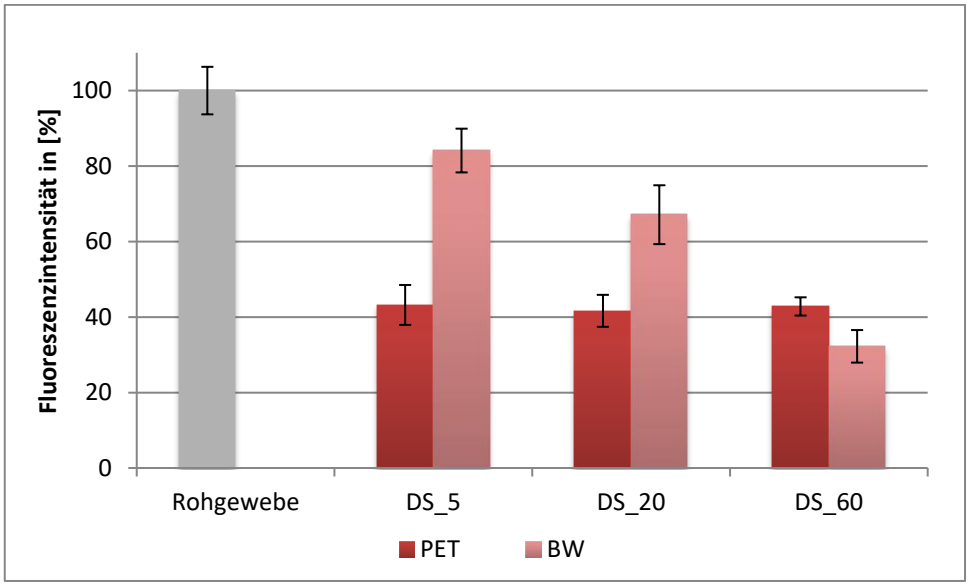


Abbildung 52. Lipaseadhäsion von PET und BW ausgerüstet mit PVAm-PEGMA mit verschiedenen DS

Werden die erzielten Werte für die beschichteten PET-Proben betrachtet (Abbildung 52) fällt auf, dass für alle drei Proben eine ähnliche Fluoreszenzintensität erreicht wurde, was bedeutet, dass auf allen drei Proben, unabhängig vom DS, gleich viel Lipase haftet. Der DS spielt bei der Ausrüstung von PET demnach eher eine untergeordnete Rolle. Umso erstaunlicher ist es, dass für DS = 5% schon eine Reduktion von fast 60 % erreicht werden konnte. Für PET-PVAm-PEGMA ist also selbst für sehr kleine DS schon eine

deutliche Reduktion der Proteinadhäsion zu vermerken, die durch einen höheren DS aber nicht gesteigert werden kann. Für die entsprechenden BW-Proben können allerdings Unterschiede zwischen den verschiedenen DS ausgemacht werden. Hier ist eine sinkende Adhäsion mit steigendem DS zu sehen. Die Werte sinken von etwas über 80 % für DS = 5% weiter auf etwa 35 % für DS = 60%.

PVAm-g-SB

In Abbildung 53 sind die ausgewerteten Ergebnisse für BW und PET dargestellt. Beschichtet wurde mit den verschiedenen PVAm-g-SB2-Derivaten mit unterschiedlichem DS. Wie zu erwarten, sinkt die Fluoreszenzintensität mit steigendem Substitutionsgrad. Das bedeutet, dass mit steigendem DS weniger Lipase an der Oberfläche anhaftet und deshalb weniger FDA gespalten wird. Für die BW-Proben nimmt die Fluoreszenzintensität von knapp 80% für PVAm-g-SB2_20 auf unter 30% für PVAm-g-SB2_80 ab. Die Werte ähneln den Ergebnissen der PVAm-PEGMA-Derivate.

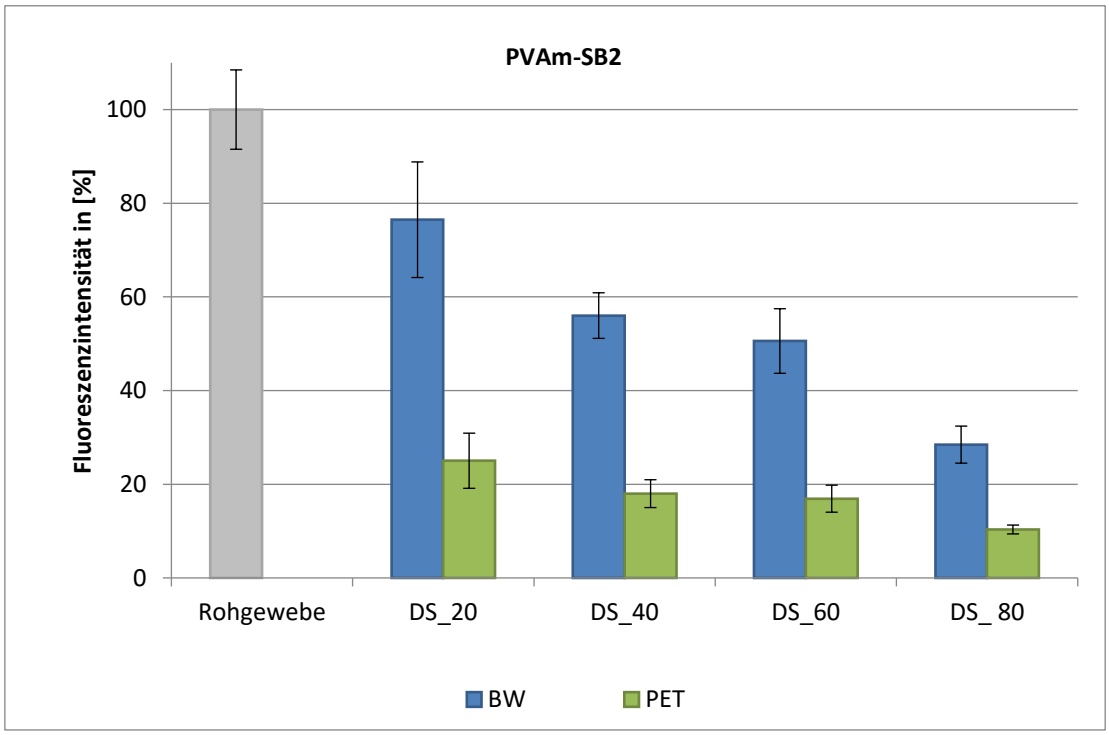


Abbildung 53. Lipaseadhäsion von mit PVAm-g-SB2 ausgerüsteter BW und PET in Abhängigkeit vom Substitutionsgrad DS.

Auch bei den PET-Proben ist eine deutliche Erniedrigung der anhaftenden Lipase zu detektieren. Allerdings wird bei Verwendung von PVAm-g-SB2_20 die Intensität schon auf 25% gesenkt, während mit steigendem DS der Wert sogar auf nur noch 10% abfällt. Hier konnte, mit der Verwendung von PVAm-g-SB2 auf PET, die Proteinadhäsion im Vergleich zu der PVAm-g-PEGMA Beschichtung deutlich reduziert werden.

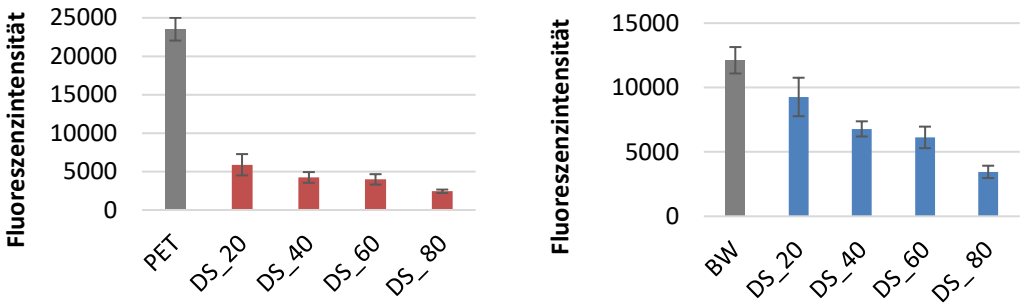


Abbildung 54: Absolutwerte der Fluoreszenzintensität für die Lipaseadhäsion von BW (blau) und PET (rot)

Bei den Absolutwerten der Fluoreszenzintensität, fällt auf, dass die Fluoreszenzintensität bei dem unbehandelten PET doppelt so hoch ist wie bei der unbehandelten BW (23500 zu 12000). Das ist in etwa die Tendenz, die schon in den Vorversuchen beobachtet werden konnte. Das bedeutet, dass es hauptsächlich ein Phänomen der Grenzflächenaktivierung der Lipase auf dem PET ist und keineswegs ein aussagekräftiger Hinweis, dass auf dem PET wesentlich mehr Lipase adhäriert als auf BW. Würde die Fluoreszenzintensität quantifiziert werden, und davon ausgegangen werden, dass die „Kalibrationsreihe“ aus den Vorversuchen 1:1 übertragen werden kann, dann bedeutet das sogar eher, dass auf der BW etwas mehr Lipase anhaftet als auf dem PET. 12000 Counts bei BW entsprach relativ genau einer Konzentration von 2 g/L oder einer Absolutmenge von 100µg. Bei PET hingegen entsprächen 23500 Counts ca. 1,5 g/L oder 75µg Lipase.

Die Ergebnisse von PVAm-g-SB1 (vgl. Abbildung 55) sind in der Tendenz ähnlich zu den Ergebnissen von PVAm-g-SB2. Allerdings sind die Differenzen zwischen BW und PET nicht so deutlich ausgeprägt wie bei PVAm-SB2 und die Ergebnisse für die PET Proben erreichen nicht so geringe Intensitäten.

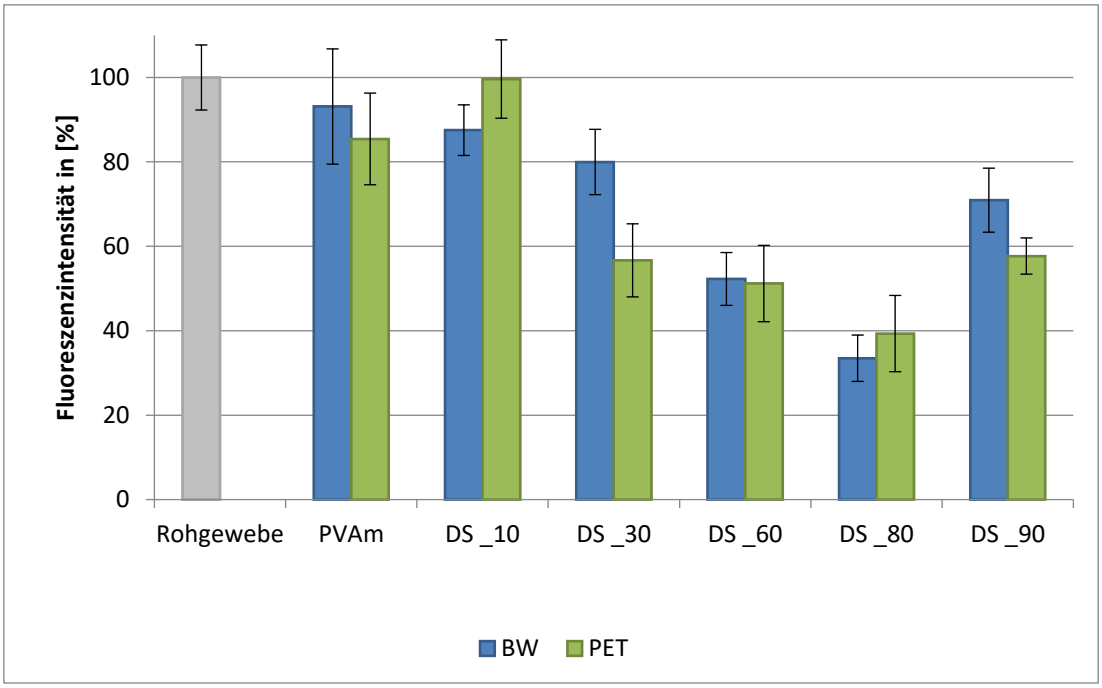


Abbildung 55. Lipaseadhäsion von mit PVAm-g-SB1 ausgerüsteter BW und PET in Abhängigkeit vom Substitutionsgrad DS.

Somit zeigte sich zusammenfassend, dass die Ausrüstungen basierend auf Polyaminen mit Sulfobetain-Seitenketten, vor allem mit PVAm-g-SB2 effizient das Anhaften der Lipase unterbinden können. Außerdem können die PVAm-g-SB2-Derivate mit der Positivkontrolle, bei der Polyvinylamin mit PEGMA modifiziert wurde, mithalten und im Fall von PET sogar eine höhere Reduktion der Lipaseadhäsion bewirken.

Einfluss der Fixierzeit auf die Proteinadhäsion

Um eine bessere Aussage über eine notwendige Fixierzeit für die Beschichtung treffen zu können, müssen, wie bereits erwähnt, die Ergebnisse der dazugehörigen Proteinadhäsion angeguckt werden.

Zur Vereinfachung sind nur die Ergebnisse von BW- und PET- Gewebe dargestellt, welche für 2 min bzw. 8 min fixiert wurden (Abbildung 56). Interessant ist, dass für BW eine Verkürzung der Fixierzeit von 8 min auf 2 min eine minimale Verbesserung der antiadhäsiven Eigenschaften mit sich bringt. Für PET ist ebenfalls zu erkennen, dass schon eine Fixierzeit von 2 min ähnlich gute Ergebnisse liefert wie nach 8 min, obwohl eine wesentlich geringere Schwefelmenge auf dem Textil vorhanden ist (Abbildung 37).

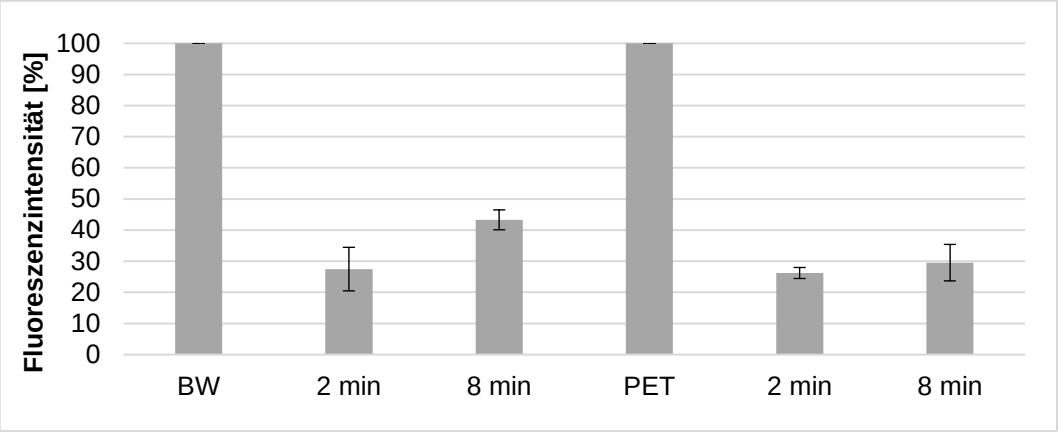


Abbildung 56. Proteinadhäsion von BW-PVAm-SB2_60 und PET-PVAm-SB2_60, mit unterschiedlichen Fixierzeiten.

Dies stimmt mit den Ergebnissen der gewaschenen Proben, in Verbindung mit den ICP- OES-Werten für den Schwefelgehalt, überein, die ebenfalls zeigten, dass eine größere Menge an Ausrüstungspolymer auf dem Gewebe (quantifiziert durch ICP) nicht mit einer besseren antiadhäsiven Wirkung (quantifiziert durch den Protein-Adhäsionstest) korreliert. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass schon eine kleine Menge kovalent mit der Oberfläche verknüpfte Polymerausrüstung die besten antiadhäsiven Eigenschaften vermittelt.

Verwendung von Lupamin 1595 und Ausrüstung bei zwei pH-Werten

Die BW- und PET- Proben, welche mit modifiziertem Lupamin 1595 ausgerüstet wurden, wurden ebenfalls auf Lipaseadhäsion getestet. Dargestellt sind die Ergebnisse in Abbildung 57.

Entgegen der Erwartung, dass bei den PET- Proben (grüne Balken), auf Grund der niedrigen Massenauflage an modifiziertem Polymer, wohl keine Reduzierung der Proteinadhäsion erkennbar sein wird, ist eine maximale Reduktion von knapp 70% für PET DS_80 bei pH = 9 erreicht worden. Die PET Ergebnisse deuten wieder darauf hin, dass die Massenauflage nicht mit der Lipaseadhäsion korreliert. Dennoch sind die maximal erreichten Werte bei weitem nicht so gut, wie bei einer Ausrüstung, bei der Lupamin 9095 als Grundgerüst verwendet wurde.

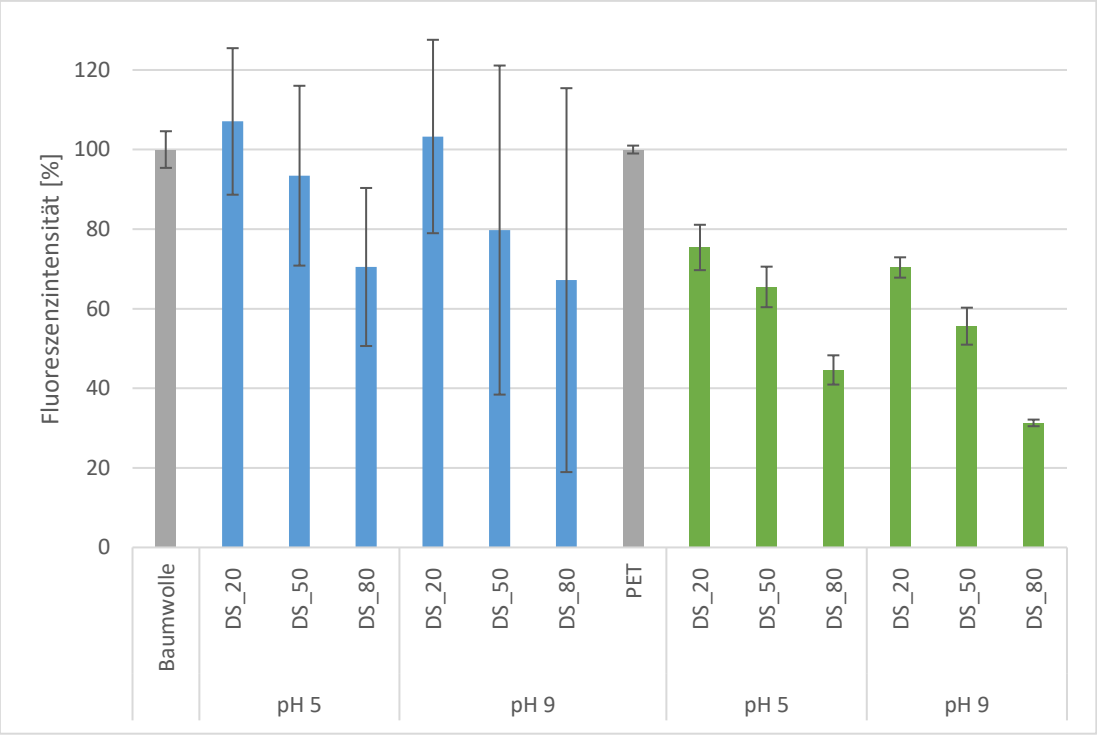


Abbildung 57: Proteinadhäsion bei Verwendung von Lupamin 1595 und Ausrüstung bei pH=5 und pH=9

Die Ergebnisse für die BW Proben weisen alle einen sehr hohen Fehlerbalken auf, so dass diese Ergebnisse nicht auswertbar sind. Es lässt sich lediglich vermuten, dass wie erwartet, die Lipaseadhäsion mit steigendem DS abnimmt. Ein Unterschied zwischen pH 5 und pH 9 kann bei den BW Proben

4.7.2 Lebend-Tot-Färbung

Zu Beginn des Projekts wurden erste Versuche zur bakteriellen Adhäsion gegenüber *S. aureus* gemessen. Diese Tests wurden in Jena von der Klinik für Hautkrankheiten, einem Institut des Universitätsklinikums Jena durchgeführt. Bei der gewählten Testmethode werden die Textilstücke (1x1 cm) für 24h bei 37°C unter aeroben Bedingungen mit der Bakterienlösung (500 µL *S. aureus* Testinokulum) inkubiert und anschließend die Anzahl der metabolisch noch aktiven Mikroorganismen auf dem Textil bestimmt. Allerdings konnte für keine der dort vermessenen Proben eine stark verminderte bakterielle Adhäsion festgestellt werden. Beispielhaft sind in Abbildung 58 die Anzahl der metabolisch aktiven Mikroorganismen von PVAm-SB2 nach 24h Inkubation dargestellt. Es ist klar zu sehen, dass für keine der Proben die Anzahl der

Keime unter 80% fällt. Somit sind nach dieser Testmethode alle Proben nur minimal antiadhäsiv.

Diese Ergebnisse veranlassten uns dazu, darüber nachzudenken, ob der Test für unsere Proben überhaupt eine große Aussagekraft besitzt. Da es nicht Ziel des Projekts war, Proben herzustellen, die 24h lang in Kontakt mit einer Bakterienlösung kommen, was z.B. der Fall wäre bei Wasserfiltern oder ähnliches, fiel der Entschluss, dass eine andere Methode nötig war.

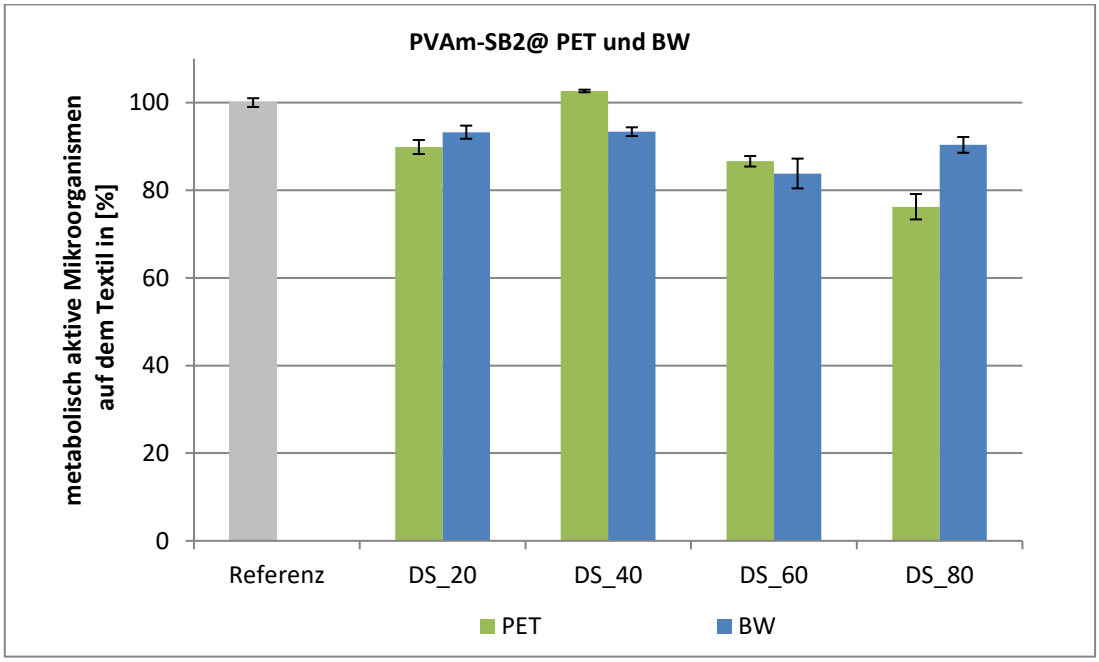


Abbildung 58. Antiadhäsive Wirkung von PVAm-SB2@ PET und BW gegen *S. aureus*. Getestet nach einer Methode der Klinik für Hautkrankheiten in Jena.

Lebend-Tot-Färbung

Dieser neue Test wurde ebenfalls in Zusammenarbeit mit der Hochschule Niederrhein entwickelt, da insbesondere für Textilien keine etablierten Tests oder DIN Normen vorliegen, die vorschreiben wie solche Proben zu vermessen sind. Bei der Versuchsdurchführung wurde sich an der Durchführung des Proteinadhäsionstests (vgl. Kapitel 3.4.1) orientiert. Die Proben wurden ebenfalls 30 Minuten inkubiert, allerdings in einer *E. coli*-Lösung. Nachdem die Proben mit dest. Wasser abgespült wurden, um nicht anhaftende *E. coli*-Zellen zu entfernen, wurden die Gewebe mit

Propidiumiodid und SYBR Green versetzt und anschließend unter dem Fluoreszenzmikroskop untersucht. Zwar erlaubt diese Methode keine quantitative Aussage über die Anzahl der Mikroorganismen, aber es sollte visuell gut erkennbar sein ob eine Probe antiadhäsive Eigenschaften aufweist, wenn die jeweilige Referenz über genügend anhaftende Zellen verfügt.

SYBR Green I (SG) ist dabei ein asymmetrischer Cyanin-Farbstoff, der in der Molekularbiologie zum Nachweis von doppelsträngiger DNA benutzt wird. Der daraus resultierende DNA-Fluoreszenzfarbstoff-Komplex absorbiert blaues Licht bei einer Wellenlänge $\lambda max = 494$ nm und emittiert grünes Licht bei $\lambda max = 521$ nm. Der Farbstoff ist zudem zellgängig, daher werden auf dem Textil alle anhaftenden *E. coli*-Zellen, die noch metabolisch aktiv sind, im Mikroskop grün fluoreszieren. Propidiumiodid (PI) hingegen wirkt als Nukleinsäureinterkalator. Der Farbstoff kann die perforierte Zellmembran von toten Zellen, jedoch nicht die intakte Membran von lebenden Zellen, durchdringen. Propidiumiodid hat ein Absorptionsmaximum bei 488 nm und ein Emissionsmaximum bei 590 nm. Alle toten *E. coli*-Zellen werden im Mikroskop demnach als rote Pünktchen sichtbar.

In Abbildung 59 sind wieder als Vergleich erst die Ergebnisse der PEGMA-Derivate auf BW und PET dargestellt. Es ist gut zu sehen, dass auf beiden Rohmaterialien viele lebende *E.coli*-Zellen anhaften. Auf dem BW-Gewebe sind es deutlich mehr Zellen als auf PET-Gewebe. Bei der Ausrüstung mit PEGMA_60 ist ein großer Unterschied zwischen BW und PET erkennbar. Bei der BW Probe ist die Zahl der anhaftenden Zellen gesunken, jedoch konnte sie nicht so stark reduziert werden wie bei der PET Probe. Auf dem ausgerüstetem PET sind fast keine *E. coli*-Zellen mehr zu finden.

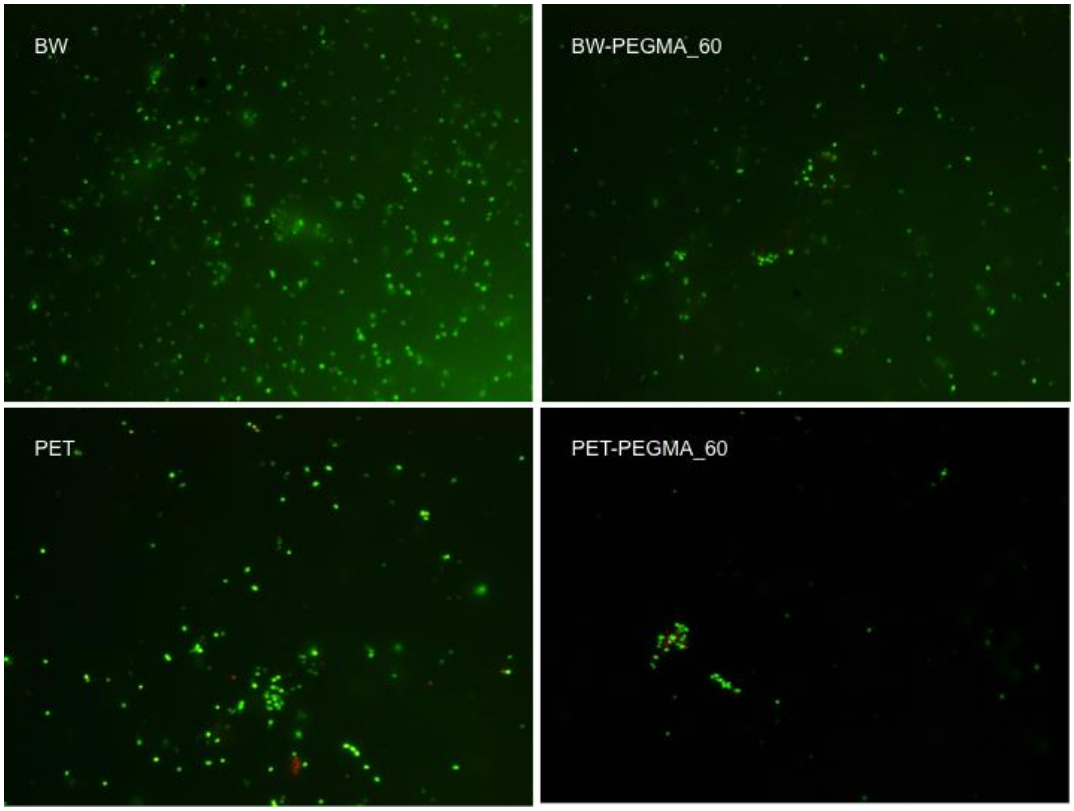


Abbildung 59. Aufnahmen mit dem Fluoreszenzmikroskop von der bakteriellen Adhäsion von PVAm-PEGMA_60 auf BW und PET gegen *E.coli*

Die Ergebnisse zeigen, dass die neue Methode eine gute Möglichkeit bietet visuell die bakterielle Adhäsion zu beurteilen. Auffällig ist nur, dass im Vergleich zur Proteinadhäsion eine große Differenz zwischen den verschiedenen Trägermaterialien erkennbar ist. Von den Ergebnissen der Proteinadhäsion könnte davon ausgegangen werden, dass der Unterschied zwischen BW und PET nicht so groß ist, und dass die BW-Probe sogar etwas antiadhäsiver sein sollte. Allerdings ist die Proteinadhäsion auch nur ein erster Anhaltspunkt für die bakterielle Adhäsion, da bei der bakteriellen Adhäsion noch viele zusätzliche Parameter zum Tragen kommen wie zum Beispiel die Anzahl und der Aufbau der Pili (Fimbrien) der Bakterien.

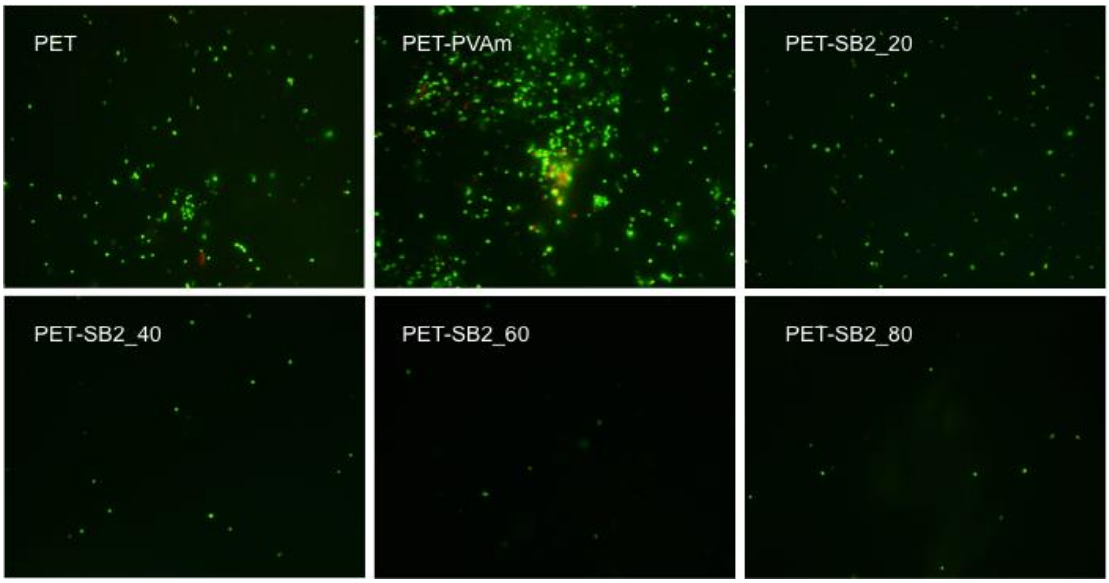


Abbildung 60. Aufnahmen mit dem Fluoreszenzmikroskop von der bakteriellen Adhäsion von PVAm-SB2@PET gegen *E.coli*

Bei der weiteren Untersuchung von beschichteten Polyesterproben mit PVAm-SB2 (Abbildung 60) ist zu erkennen, dass bei dem Rohmaterial, welches lediglich mit PVAm ausgerüstet wurde, wesentlich mehr anhaftende Zellen zu finden sind. Durch die veränderte Oberfläche wird die Anhaftung von *E. coli*-Zellen in diesem Fall anscheinend sogar begünstig. Auffällig ist jedoch, dass es sich überwiegend um lebende Zellen handelt, obwohl bei den mikrobiologischen Untersuchungen schon bewiesen wurde, dass eine PVAm Ausrüstung auf *E. coli*-Zellen antimikrobiell wirkt (vgl. Kapitel 4.7.4). Dies hat wahrscheinlich damit zu tun, dass Polyvinylamin zwar ein Kontaktbiozid darstellt, aber eine längere „Einwirkzeit" benötigt, um abtötend zu wirken.

Bei den nächsten vier Proben mit den steigenden DS ist deutlich sichtbar, dass sich die Zellzahl immer weiter verringert. Anfangs bei einem DS = 20% sind eine ähnliche Anzahl an Zellen zu sehen wie auf dem Rohmaterial. Nur noch vereinzelte Zellen hingegen sind auf der Probe, die mit PVAm-SB2_80 beschichtet wurde, im Mikroskop zu erkennen.

Ähnliche Ergebnisse wurden auf BW-Gewebe erzielt (vgl. Abbildung 61). Die Reduktion der anhaftenden Zellen ist bei allen Proben nur etwas geringer. Bei den Proben, die mit PVAm-SB2 ausgerüstet wurden, bestätigen sich demnach die Ergebnisse der Proteinadhäsion. Bei diesen Proben konnte folgend keine so große Abweichung festgestellt werden wie bei den Proben, die mit PVAm-PEGMA ausgerüstet wurden.

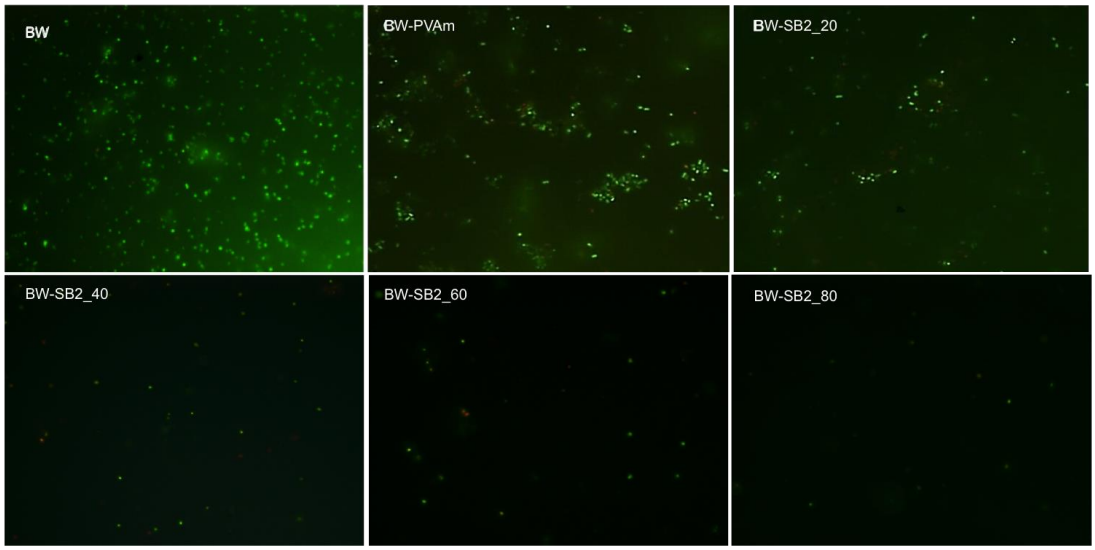


Abbildung 61: Aufnahmen mit dem Fluoreszenzmikroskop von der bakteriellen Adhäsion von PVAm-SB2@BW gegen *E.coli*

Auch mit dieser Methode bestätigt sich, dass durch die Modifikation von PVAm mit SB2, die antiadhäsiven Eigenschaften der ausgerüsteten Gewebe deutlich verbessert werden kann. Allerdings ist der Effekt bei niedrigen SG geringer als bei der Proteinadhäsion.

4.7.3 Bakterielle Adhäsion

Um die bakterielle Adhäsion auch noch einmal auf eine andere Weise zu bestimmen wurden die Proben wie in 3.4.3 beschrieben mit einem gram-positiven (*B. subtilis*) und einem gram-negativen (*E. coli*) inkubiert um die fest adhärierten Mikroorganismen anschließend mittels GDA auf den Geweben zu fixieren um sie dann unter einem REM anschauen zu können.

Generell war es sehr schwer, die REM-Aufnahmen auszuwerten, da beide Stämme die Faseroberfläche nicht homogen „kolonisierten“ sondern eher immer verschiedene Areale auf dem Textil erkennbar waren, in denen sich vermehrt Mikroorganismen angesiedelt haben. Für die unbehandelten Proben war jedoch gut zu sehen, dass dort flächendeckend vermehrt Mikroorganismen anhafteten. Bei den beschichteten Proben gab es aber immer verschiedene Areale in denen kein einziger Mikroorganismus zu sehen war und Areale wo sich die einzelnen Stämme vermehrt niedersetzten. Deshalb

wurde versucht bei der Auswahl der Bilder darauf zu achten, dass diese auch wirklich einen Mittelwert darstellen.

In Abbildung 62 sind exemplarisch REM-Aufnahmen von BW dargestellt, welche mit *E. coli* und *S. aureus* inkubiert wurden. Zu sehen sind die Aufnahmen der unbehandelten BW Proben, sowie BW, welches mit PVAm-g-SB2_20 und PVAm-g-SB2_80 ausgerüstet wurde. Es ist zu erkennen, dass auf dem Referenzmaterial sehr viele Mikroorganismen auf der Faseroberfläche haften. Auffällig ist dabei, dass sich der *B. subtilis* (obere Bilderreihe) netzartig über die Faseroberfläche verteilt hat und der *E. coli* (untere Bilderreihe) vereinzelt auf der ganzen Matrix angesiedelt war. Mit steigendem DS nimmt dann auch die Anzahl der anhaftenden Mikroorganismen ab. Für DS=20 ist die Reduktion schon deutlich zu erkennen, wobei bei den *S. aureus* Proben im Vergleich zu den *E. coli* Proben mehr Bereiche mit Mikroorganismen zu finden waren. Für die hoch substituierten BW-Proben (> DS_80) waren nur noch eine geringfügige Anzahl an Mikroorganismen auf der Oberfläche zu finden, jedoch wurden eher noch vereinzelte *E. coli* Bakterien als *B. subtilis* gefunden.

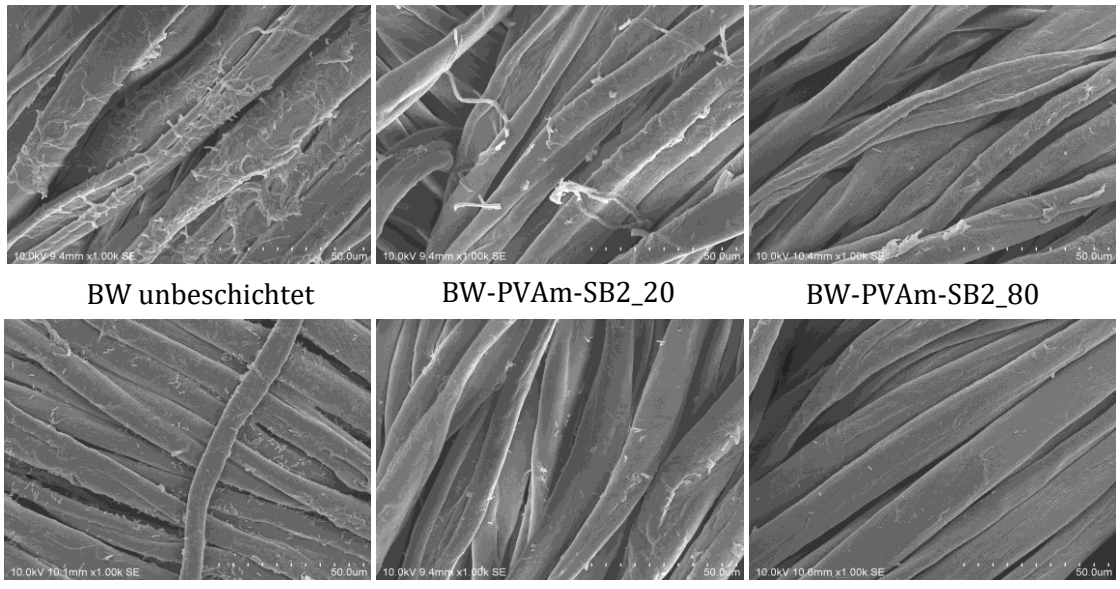


Abbildung 62: Bakterielle Adhäsion auf BW von *B. subtilis* (oben) und *E. coli* (unten)

Die entsprechenden PET-Proben sind in Abbildung 63 dargestellt. Auch hier ist bei dem unbeschichteten PET der Unterschied zwischen *B. subtilis* und *E. coli* zu erkennen. Der *B. subtilis* verbreitet sich wieder netzartig über die ganze Oberfläche und die *E. coli* Bakterien haften vereinzelt an der Faser.

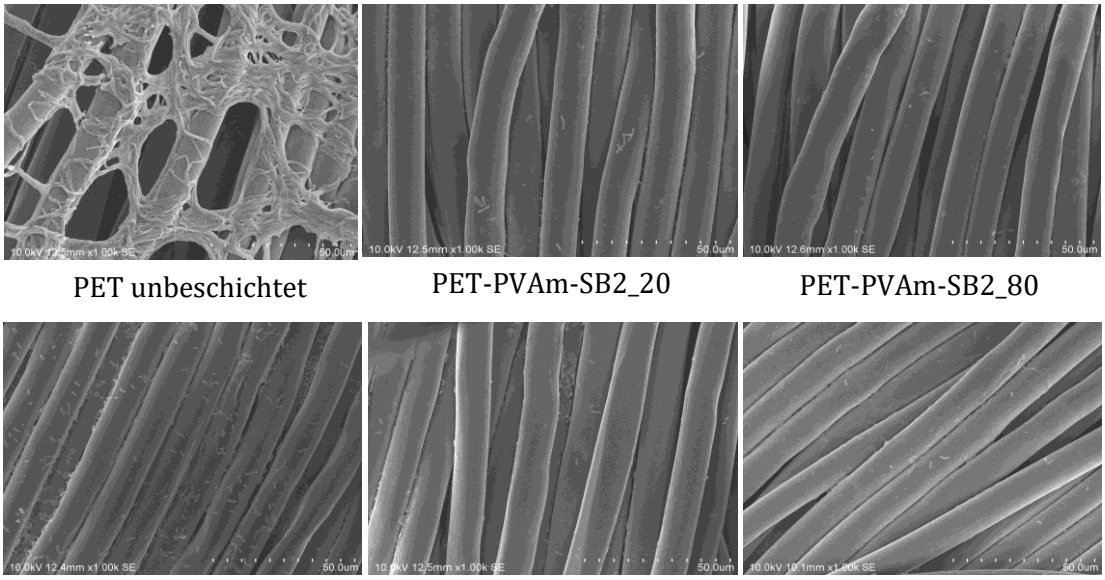


Abbildung 63: Bakterielle Adhäsion auf PET von B. subtilis (oben) und E. coli (unten)

Bei den beschichteten PET-Proben ist wieder deutlich zu erkennen, dass schon DS = 20 ausreicht um eine deutliche Reduktion der anhaftenden Bakterien erzielt werden konnte. Allerdings ist es bei den PET-Proben eher so, dass zahlenmäßig mehr E. coli als *B. subtilis* auf der Probe mit DS=20 zu erkennen sind.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass auch mittels dieser gewählten Methode bestätigt werden kann, dass die hergestellten Ausrüstungslösungen mit steigendem DS auch die bakterielle Adhäsion vermindern. Vor allem bei hohen Substitutionsgraden sind nur noch wenig Bakterien auf der Faseroberfläche nachzuweisen. Allerdings ist sowohl die Auswertung als auch die Versuchsdurchführung sehr zeitintensiv, so dass unterm Strich die Lebend-Tot-Färbung zu bevorzugen ist. Vor allem weil bei der Lebend-Tot-Färbung annährend ähnliche Ergebnisse erhalten werden.

4.7.4 Bestimmung der antibakteriellen Eigenschaften

Die antibakterielle Wirksamkeit von den verschiedenen BW und PET Proben wurden nach JIS L 1902:2008 gegen *Escherichia coli* (DSM 5923), *Staphylococcus aureus (ATCC 6538), Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352) und *Candida albicans* (ATCC 10231) bestimmt. Diese Tests wurden in Jena von der Klinik für Hautkrankheiten, einem Institut des Universitätsklinikums Jena, durchgeführt.

Das verwendete Polyvinylamin als Polymerrückgrad ist ein kationisches Polymer und wirkt als Kontaktbiozid, indem es mit der Hülle der Bakterienzellen interagiert und diese destabilisiert. Trägermaterialien, die demnach nur mit PVAm ausgerüstet sind, sollten eine antimikrobielle Wirkung besitzen. Werden durch die Michael-Addition, mit steigendem DS, vermehrt Betaingruppen eingeführt, sollte dies zu einer Senkung der antimikrobiellen Wirkung führen, da die Aminogruppen durch die Betainketten abgeschirmt werden. Zur Vereinfachung wurden jeweils nur die Ergebnisse gegenüber einem gram-negativem Bakterium (*E. coli*) und einem gram-positiven (*S. aureus*) dargestellt. Am Ende des Kapitels befindet sich einmal eine Darstellung (vgl. Abbildung 66) in der zwei ausgewählte Polymerderivate und deren antimikrobielle Wirksamkeit gegenüber allen vier Testkeimen gezeigt werden.

Die Ergebnisse aus Jena bestätigen die antimikrobielle Wirkung des PVAm, da die entsprechend ausgerüsteten PET- und BW-Proben kein Wachstum von *E. coli* (gram-negativ) und *S. aureus* (gram-positiv) aufweisen (Abbildung 64 und Abbildung 65).

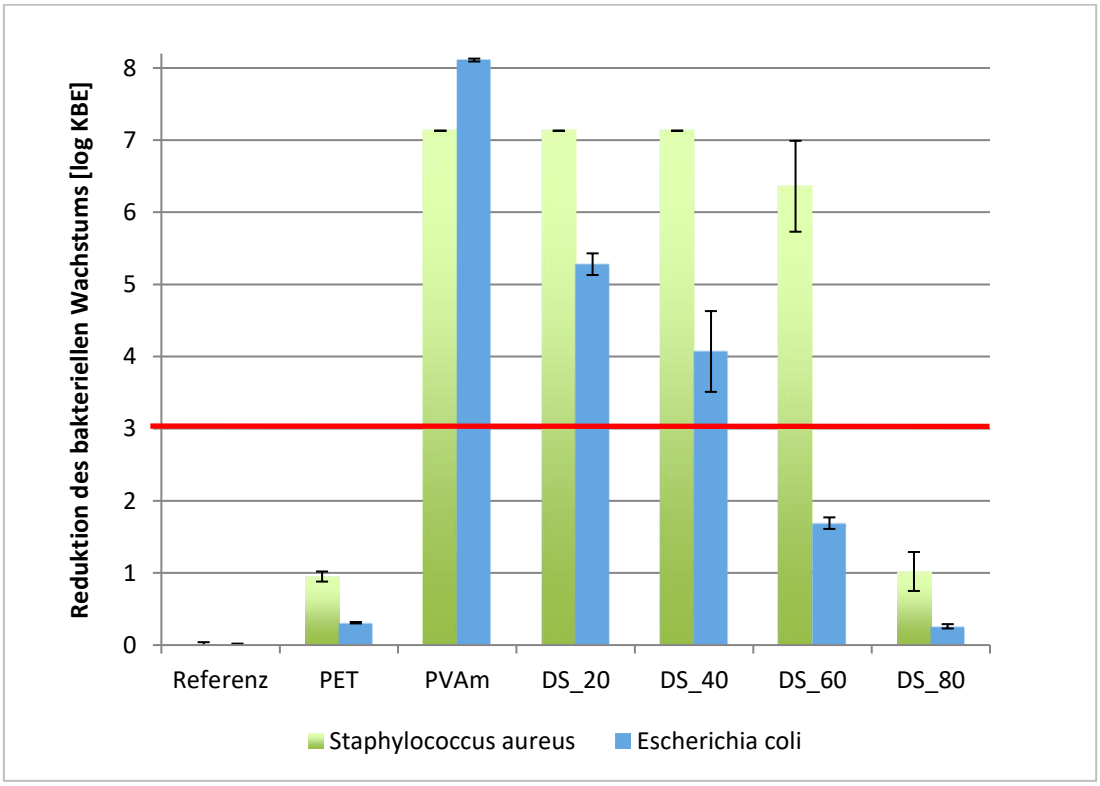


Abbildung 64. Bakterielles Wachstum von *E. coli* und *S. aureus* auf PET ausgerüstet mit verschiedenen PVAm-SB2 Derivaten

Werden die Ergebnisse für die mit PVAm-g-SB2 ausgerüsteten PET-Proben (Abbildung 64) genauer betrachtet, ist insgesamt ein Abfall der antimikrobiellen Aktivität gegen *E. coli* (blaue Balken) mit steigendem Substitutionsgrad der Ausrüstungspolymere zu erkennen. Die ersten beiden Proben (DS = 20 und 40%) weisen hierbei noch eine log 3-Reduktion der koloniebildenden Einheiten (KBE) auf. Dies ist zum Beispiel im Lebensmittelbereich die Voraussetzung, um eine starke antimikrobielle Wirkung ausloben zu dürfen. Die PET-Proben mit den höheren DS (60 und 80%) weisen dagegen nur noch eine schwache (log 1,5 Reduktion) bzw. keine antimikrobielle Wirkung auf.

Die Ergebnisse für die Aktivität gegenüber *S. aureus* (grüne Balken) weisen einen ähnlichen Trend auf, unterscheiden sich aber in den Absolutwerten. Nicht überraschend ist, dass die Proben durchgehend antimikrobieller wirken als die entsprechenden *E. coli* Proben, was auf den einfacheren Aufbau der Zellwand von gram-positiven Bakterien zurückzuführen ist (sieht Kapitel 2.2), der das Abtöten durch Kontaktbiozide erleichtert. Dies führt dazu, dass bei den Proben mit DS = 20, 40 und 60% kein oder nur sehr geringes Wachstum zu beobachten ist. Die Probe mit DS = 80% ist dagegen ähnlich inaktiv wie das Referenzgewebe.

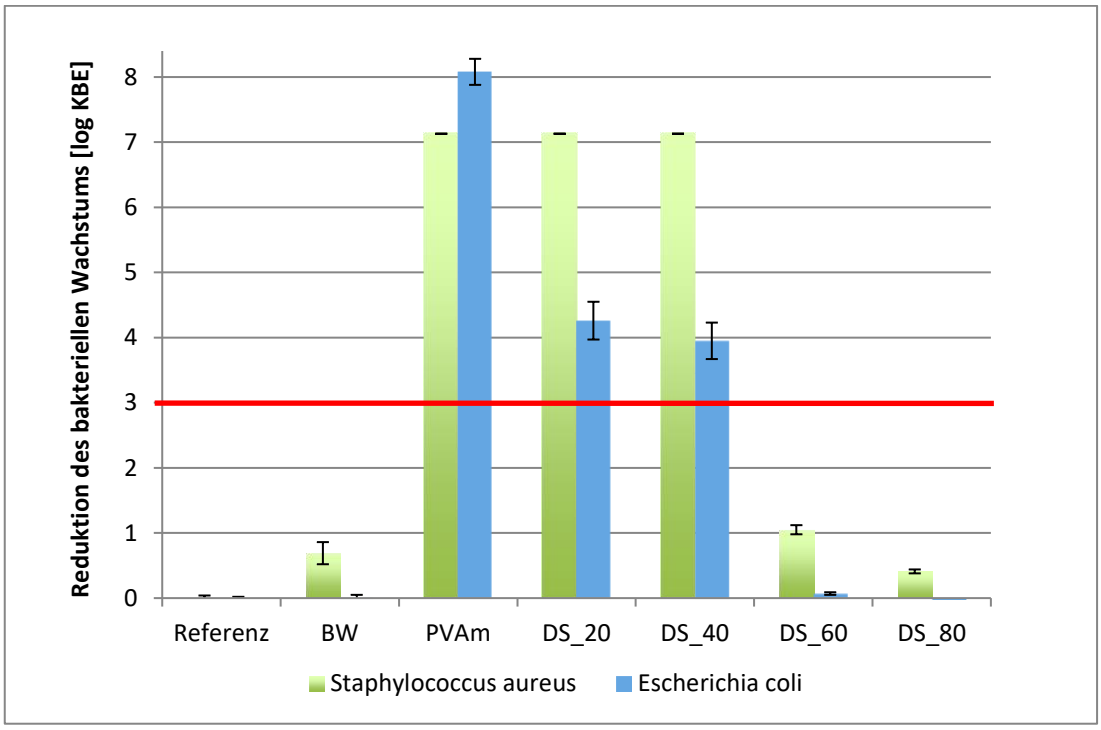


Abbildung 65. Bakterielles Wachstum von von *E. coli* und *S. aureus* auf BW ausgerüstet mit verschiedenen PVAm-SB2 Derivaten

Bei den BW-Proben (Abbildung 65) sind die Ergebnisse vergleichbar, obwohl hier weniger ein linearer Zusammenhang zwischen Substitutionsgrad und antimikrobieller Wirksamkeit zu beobachten ist, sondern eine „Zweiteilung“ beobachtet wird. Beide Proben mit den niedrigen DS (20 und 40 %) weisen hier eine ähnliche Reduktion des Wachstums von *E. coli* und *S. aureus* auf, wobei auch hier die Aktivität gegenüber *S. aureus* deutlich größer ist (log 7 Reduktion) als gegenüber *E. coli* (log 4 Reduktion). Die beiden Proben mit hohem DS (60 und 80 %) weisen dagegen nur eine geringe (log 0,5-1 für *S. aureus*) bis keine Aktivität (*E. coli*) auf.

Zusammenfassend kann die Theorie, dass mit sinkender Anzahl an protonierbaren Aminen des PVAm die antimikrobielle Wirksamkeit sinkt, bestätigt werden. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die antimikrobielle Wirkung noch bis zu einem SG = 40 % bestehen bleibt. Erst bei noch höheren SG geht diese Wirkung verloren und die Beschichtungen haben keinen bedeutenden Einfluss mehr auf das bakterielle Wachstum der einzelnen Bakterien.

Vollständigkeitshalber zum Schluss eine Darstellung (Abbildung 66) zur antimikrobiellen Wirksamkeit von PVAm-g-SB2 auf PET gegen alle vier getesteten Keime. Darunter ein gram-negativer (*E. coli*), zwei gram-positive (*S. aureus* und *K. pneumoniae*) und ein Hefepilz (*C. albicans*).

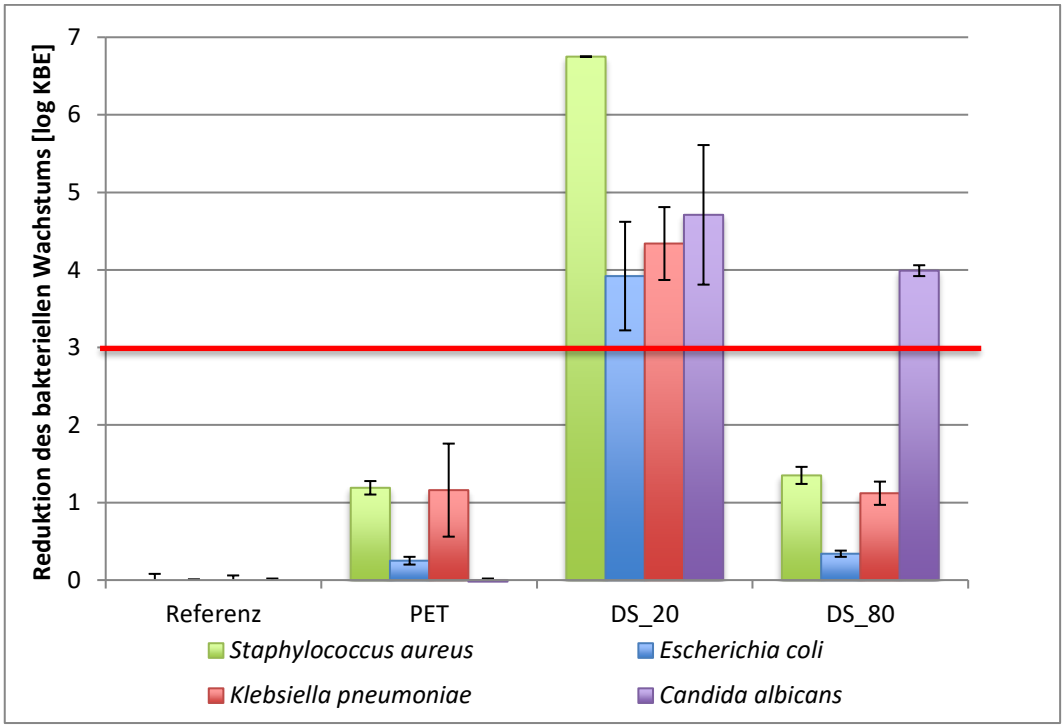


Abbildung 66. Erweiterte antimikrobielle Wirksamkeit von PVAm-SB2_20 und PVAm-SB2_80 @ PET gegenüber *K. pneumoniae* und einem Hefepilz (*C. albicans*).

Die Ergebnisse von *E. coli* und *S. aureus* sind ja aus den oben gezeigten Darstellungen schon bekannt. Für den zweiten gram-positiven Keim, *K. pneumoniae,* ist zu sehen, dass er ähnlich auf die Ausrüstung reagiert wie *S. aureus*. Lediglich bei DS = 20 liegt die log-Reduktion nur bei ca. 4.5 im Vergleich zu ca. 6,5 bei *S.aureus*, was aber immernoch für starke antimikrobielle Eigenschaften, auch gegenüber *K. pneumoniae,* spricht.

Interessant sind die Ergebnisse für den Hefepilz. Auf der Wachstumskontrolle und auch auf dem PET-Gewebe wächst *C. albicans* noch ungehindert. Sobald PET jedoch mit Betain modifiziertem Polyvinylamin ausgerüstet wird, erreichen wir sowohl bei niedrigen DS, als auch bei hohen DS eine log-Reduktion von mind. 4 auf das Wachstum von *C. albicans*. Das deutet darauf hin, dass dieser Hefepilz empfindlicher auf die übrigen protonierten Aminogruppen des Polyvinylamins reagiert.

4.7.5 Bestimmung der zytotoxischen Wirkung mit dem Krefelder Ciliaten-Test

Ciliaten („Wimperntierchen“) sind einzellige Wasserlebewesen, die im Meer und in Flüssen, Seen, Tümpeln oder sogar Wasserpfützen vorkommen. Vertreter der Gattung Tetrahymena werden schon seit Jahrzehnten als Modellorganismen in der molekularbiologischen Grundlagenforschung sowie für Toxizitätsstudien verwendet [135], wobei *Tetrahymena pyriformis* der am besten untersuchte Organismus ist. Gründe hierfür liegen einerseits in der einfachen Kultivierbarkeit der Organismen sowie der engen genetischen Verwandtschaft zu höheren Eukaryoten. Daher lassen die Toxizitätstests entsprechende Rückschlüsse auf die Wirkung gegenüber Menschen zu. Dies hat dazu geführt, dass für *T. pyriformis* mittlerweile eine Vielzahl von Studien zur Evaluierung von organischen Verbindungen [136] [137] und Pharmazeutika [138], möglichen Umweltgiften (z.B. Schwermetalle) [139] und Polymeren bekannt sind.

Als Alternative zu klassischen Ciliatentests, die auf einer optischen Bestimmung der Zelldichte nach Zugabe von Testsubstanzen zu Ciliatenkulturen beruhen, wurde am DTNW schon Ende der 1990er Jahre ein Toxizitätstest entwickelt („Krefelder Ciliatentest“) [140], in dem der Einfluss von Testsubstanzen auf Ciliaten durch eine mikrokalorimetrische Bestimmung der Wärmeentwicklung der Ciliaten quantifiziert wird. Dies hat den Vorteil, dass auch farbige oder heterogene Proben sowie Feststoffe wie Textilien untersucht werden können, da für diese die optische Bestimmung der Zelldichte äußerst fehlerbehaftet ist. Die Ciliaten produzieren durch ihre Fortbewegung und deren Stoffwechselaktivität Wärme. Mit Hilfe eines Kalorimeters kann diese produzierte Wärmemenge detektiert werden. Sobald eine Substanz auf den Organismus zytotoxisch wirkt, bewegen sich die Ciliaten nicht mehr und stellen ihre Stoffwechselaktivitäten ganz oder zum Teil ein. Dadurch wird keine oder nur noch weniger Wärme produziert.

Untersucht wurden die Polyvinylaminlösungen (Lupamin® 1595 und Lupamin® 9095), die modifizierten Polymerlösungen, die auch zum Ausrüsten verwendet wurden (z.B. PVAm-g-SB1 und PVAm-g-SB2) sowie BW-Proben, welche mit den einzelnen Lösungen beschichtet wurde. PET-Proben konnten leider noch nicht vermessen werden, da die es für die Messung notwendige Pulverisierung der Proben mit der uns vorliegenden Kugelmühle nicht erreicht werden konnte. Versuche, PET-Proben für die Messung zu verwenden, die mit einer Schere in möglichst kleine Stücke zerteilt wurden, scheiterten, da die erhaltenen Stücke um den Rührer wickelten, der den Inhalt der Messzelle

bewegte. Wird nicht gerührt, sedimentieren sowohl die Testprobe als auch die Organismen, was die Testergebnisse verfälscht.

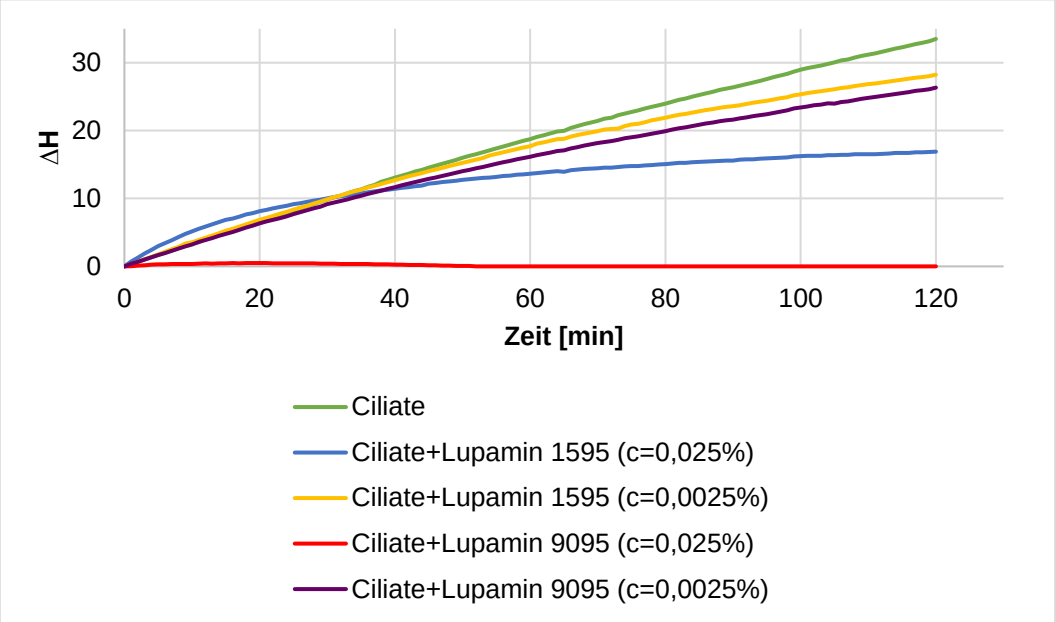


Abbildung 67: Wärmeentwicklung der Ciliaten unter Einfluss von verschiedenen Polyvinylaminlösungen.

Die ersten Untersuchungen wurden mit den kommerziell erhältlichen Lupamin® -Lösungen durchgeführt. Als grüne Linie in Abbildung 67 ist die normale Enthalpieänderung der Ciliatenkultur im Kalorimeter während einer 120-minütigen Messung dargestellt. Diese Energieabgabe spiegelt den normalen Stoffwechsel- und Bewegungsverlauf der Ciliaten bei guten Umgebungsvoraussetzungen wider, wobei zusätzlich noch der Energieeintrag des Rührens zur Energieabgabe beiträgt. In vier separaten Messungen wurden den Ciliaten jeweils 1 mL einer 1%igen (entspricht 0.025% PVAm in der gesamten Lösung) oder 0.1%igen (0.0025%) Lupamin® -Lösung hinzugegeben. Die Ergebnisse für die 0.025%igen Lösungen zeigen, dass sowohl Lupamin® 9095 (rote Linie) als auch Lupamin® 1595 zytotoxisch auf die Ciliaten wirken, wobei der Effekt für Lupamin® 9095 deutlich ausgeprägter ist. Bei einer 10-fachen Verdünnung, weisen die Ciliaten für beide Lösungen (lila und gelbe Kurve) nur eine leicht eingeschränkte Wärmeentwicklung auf, sodass rein qualitativ nicht mehr von einer wirklichen Zytotoxizität gesprochen werden kann.

Für die PVAm-g-SB2-Derivate mit unterschiedlichem DS wurden 1 Gew.%ige Polymerlösungen getestet, da diese Konzentration zum Ausrüsten verwendet werden. Hier hat lediglich PVAm-g-SB2-DS_20 (blaue Kurve, Abbildung 68) stärkere Auswirkungen auf die Ciliaten, wobei der Effekt aber deutlich unter dem des unsubstituierten PVAms der gleichen Konzentration liegt.

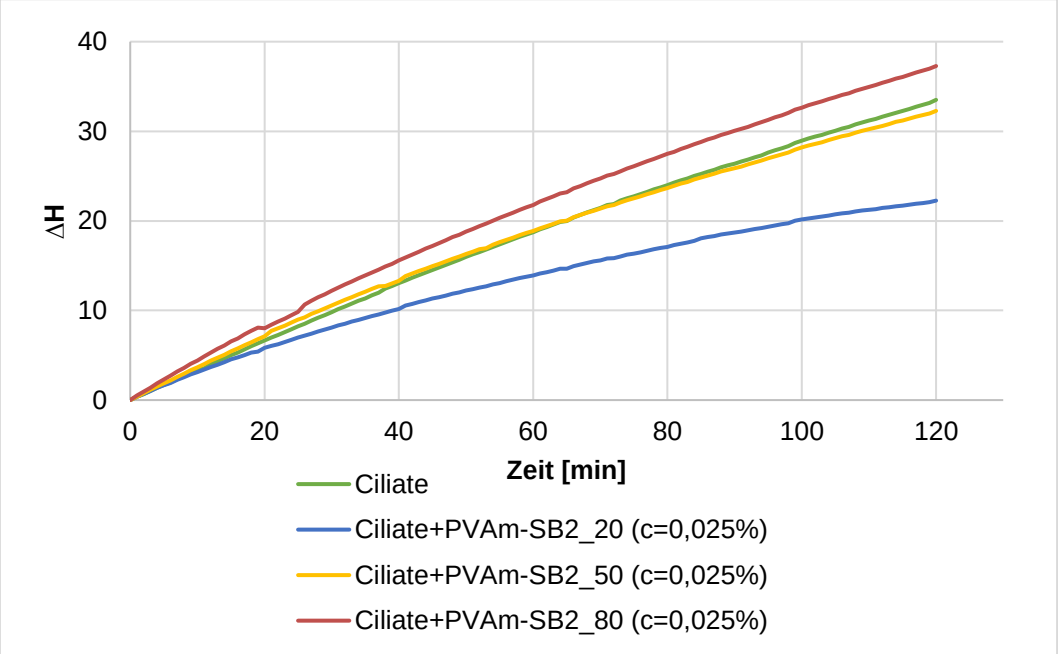


Abbildung 68. Enthalpieänderung der Ciliaten unter Einfluss von den modifizierten Polyvinylaminlösungen

Die Kurve für PVAm-SB2-DS_50 (gelb) liegt genau über der Normalkurve der Ciliaten, während die Kurve für DS = 80% sogar leicht über der Normkurve liegt. Die genauen Ursachen für die leicht erhöhte Zellviabilität sind im Moment noch nicht bekannt. Beide Polymere haben somit keinen negativen Einfluss auf das Wachstum der Ciliaten.

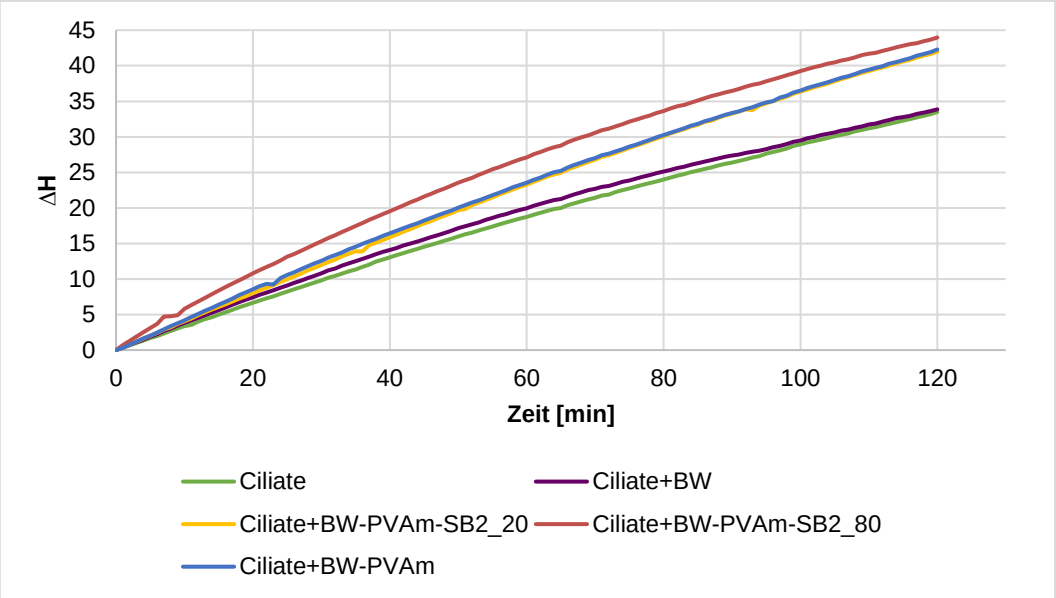


Abbildung 69**.** Enthalpie-Zeit Kurven von *T. pyriformis* unter Zusatz von beschichteten BW-Proben.

Abschließend wurden auch die entsprechend ausgerüsteten BW-Proben untersucht (Abbildung 69). Dazu wurden die BW-Proben mit einer Kugelmühle pulverisiert und direkt vor der Messung zu den Ciliaten gegeben. Für die unbehandelte BW ergibt sich eine Enthalpie-Zeit-Kurve, die nahezu deckungsgleich mit der Normalkurve der Ciliaten ist. Für drei beschichtete Proben (mit PVAm, PVAm-g-SB2-DS_20 und PVAm- g- SB2- DS_80) ergeben sich Kurven, die über der normalen Enthalpieänderung liegen. Die Proben begünstigen demnach noch minimal die Zellviabilität der Ciliaten. Es wurde durch die Messungen deutlich, dass keine der ausgerüsteten Textilien einen negativen Einfluss auf die Zellviabilität hatten.

4.8 Textile Prüfungen

4.8.1 Bestimmung der Waschbeständigkeit

Für die möglichen Einsatzgebiete (Arbeitskleidung, Sport- und Outdoor-Textilien, Heimtextilien, Hygienebereich etc.) ist die Waschbeständigkeit der Beschichtung von bedeutung, da diese regelmäßig gewaschen werden. Getestet wurde die Waschbeständigkeit analog zu DIN EN ISO 105-C06. Die Flottenaufnahme betrug dabei 1:30. Gewaschen wurde im LiniTester bei 40°C mit 30 Minuten pro Waschgang inkl.

Stahlkugeln für die mechanische Beanspruchung. Es wurden bis zu 5 Waschzyklen durchgeführt.

Tabelle 17. Zusammensetzung des verwendeten ECE-Waschmittels nach ISO 105-C06:2010

Inhaltsstoff	**Spezifikation**
Lineares Natriumalkylbenzolsulfonat (Mittlere Kettenlänge C 11,5)	8.0 %
Ethoxylierte Talgalkohole (14 EO)	2.9 %
Natriumseife (C12-16: 13-26 %, C18-22: 74-87 %)	3.5 %
Natriumtripolyphosphat	43.7 %
Natriumsilicat (SiO_2:Na_2O = 3,3:1)	7.5 %
Magnesiumsilicat	1.9 %
Carboxymethylcellulose	1.2 %
EDTA (Ethylendiaminetetraessigsäure Natriumsalz)	0.2 %
Natriumsulfat	21.2 %
Wasser	9.9 %

Als Waschmittel wurde, wie in der DIN Norm angegeben, das phosphathaltige ECE-Waschmittel benutzt. Die waschaktiven Substanzen in diesem Waschmittel sind zwei verschiedene anionische Tenside (vgl. Tabelle 17) und ein nichtionisches Tensid. Nach den Waschzyklen wurde mittels ICP-OES-Analyse der Restschwefelgehalt auf dem Gewebe bestimmt, um die Beständigkeit der Beschichtung einschätzen zu können.

Für das ECE-Waschmittel muss allerdings berücksichtigt werden, dass hier Schwefelverbindungen enthalten sind (z.B. Natriumsulfat und Natriumalkylbenzolsulfonat). Dies kann die Ergebnisse verfälschen, da nicht

ausgeschlossen werden kann, dass sich Reste der Inhaltsstoffe auf dem Gewebe anlagern und soin der ICP-OES Analyse zu einem erhöhten Schwefelgehalt führen.

Aus diesem Grund wurden zusätzlich zwei Tenside als reine Lösungen verwendet. Es kam ein anionisches Tensid (Natriumstearat) sowie ein nichtionisches Tensid (Alkyl- PEG) zum Einsatz. Der Gesamttensidgehalt des ECE-Waschmittels beträgt ca. 15% (vgl. Tabelle 17). Bei einer Einsatzmenge von 4 g Waschmittel pro Liter Waschflotte (analog zur DIN Norm) entspricht das einer Menge aktiver Waschsubstanz von 600 mg / Liter. Von den beiden Tensiden wurden dementsprechend Lösungen mit 0.6 g / L angesetzt und verwendet.

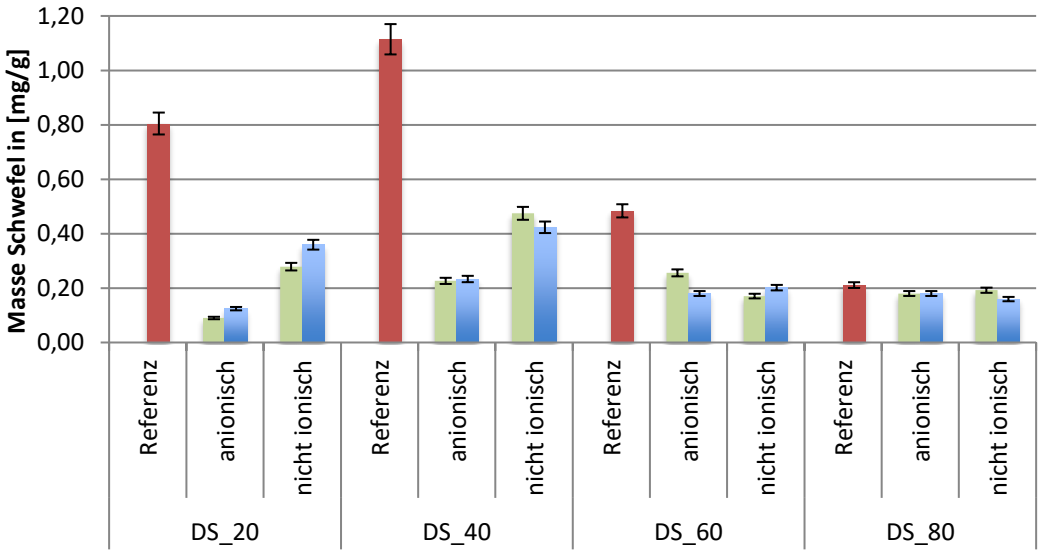


Abbildung 70. ICP-Ergebnisse der Schwefelbestimmung von ungewaschenen (rot) und gewaschenen (1 Waschzyklus: grün; 5 Waschzyklen: blau) PET-Proben, die mit zuvor PVAm-g-SB2 ausgerüstet wurden.

In Abbildung 70 als rote Balken dargestellt sind die schon bekannten Ergebnisse der ICP-Analyse von den mit PVAm-g-SB2 (DS 20-80%) beschichteten PET- und BW-Proben nach einfachem Waschen mit Wasser. In grün dargestellt sind die Ergebnisse nach dem 1. Waschzyklus mit dem anionischen und dem nichtionischen Tensid. Deutlich zu sehen ist der starke Rückgang des Schwefelgehalts nach dem ersten Waschgang, vor allem für die ersten beiden Proben mit einem geringeren DS (20 und 40%), aber auch signifikant für DS = 60%. Bei der Ausrüstung mit DS = 80% ist dagegen kein deutlicher Rückgang der Schwefelmenge mehr zu beobachten.

Für die Proben mit DS = 20 und 40% ist ebenfalls zu sehen, dass das anionische Tensid mehr von der Beschichtung abwäscht, als das nichtionische Tensid. Bei den beiden Proben mit den höheren Substitutionsgraden sind dagegen beide Werte nahezu identisch.

Insgesamt ist auffällig, dass die Ergebnisse für das Polymer mit einem DS von 80% zwar auf einem sehr geringen Niveau sind (0.2 mg S/mg Textil), die Werte vor und nach dem Waschen aber fast identisch sind. Dies spricht dafür, dass nach der Ausrüstung inklusive einmaligem Waschen mit Wasser die verbliebenen Ausrüstungspolymere kovalent gebunden sind. In Gegensatz dazu ist ein größerer Teil der Ausrüstungspolymere mit niedrigerem DS nicht kovalent an das Textil bzw. an die Ausrüstungsmatrix gebunden. Dieser Anteil wird durch das Waschen mit Tensid abgelöst, sodass hier die jeweils niedrigsten Werte nach 5 Waschzyklen den Anteil an kovalent gebundenen Ausrüstungspolymer repräsentieren.

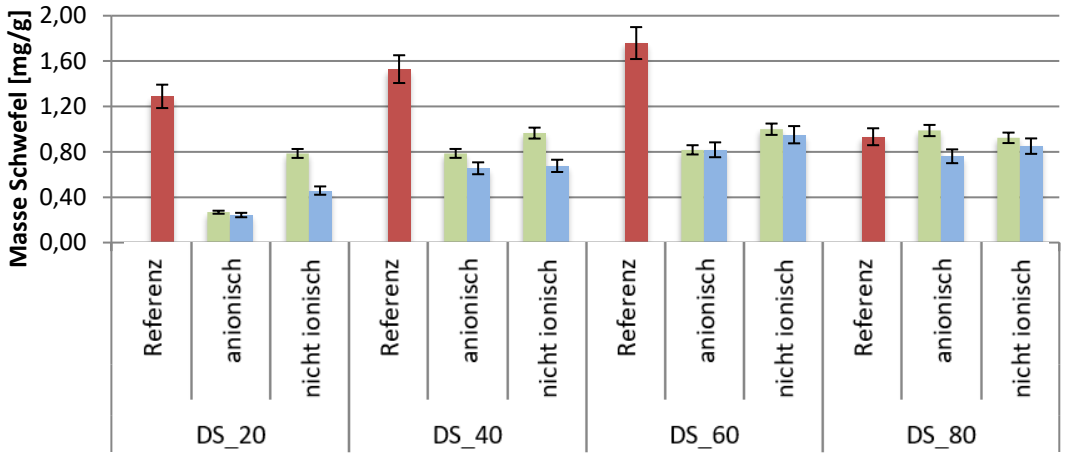


Abbildung 71. ICP-Ergebnisse der Schwefelbestimmung von ungewaschenen (rot) und gewaschenen (1 Waschzyklus: grün; 5 Waschzyklen: blau) BW-Proben, die mit zuvor PVAm-g-SB2 ausgerüstet wurden

Die Ergebnisse der Waschbeständigkeit für die BW-Proben (Abbildung 71) sind ähnlich zu den Ergebnissen der PET-Proben. Auch hier nimmt der Schwefelgehalt für die Ausrüstungen mit DS 20 – 60% bereits nach einem Waschzyklus mit anionischem oder nichtionischem Tensid ab, während der Wert für die Ausrüstung mit dem Polymer mit DS = 80% konstant bleibt. Für die BW-Proben zeigt sich, außer für DS = 20%, kein signifikanter Unterschied in der Waschkraft der beiden Tenside.

Wird der Restschwefelgehalt als Maß für die kovalent gebundenen Ausrüstungspolymere genommen, so zeigt sich, dass für die Baumwollproben, auch nach dem Waschen, deutlich mehr Polymer an die Faseroberfläche gebunden werden kann als auf die PET-Oberfläche. Dies beruht wie schon in Kapitel 4.6.3 erläutert, auf den Einsatz von Cyanurchlorid als Anker. Die Werte, sowohl für BW als auch für PET, für die Polymere mit dem geringsten DS sind am niedrigsten, was auch zu erwarten war, da in diesem PVAm-Derivat der geringste Schwefelanteil vorhanden ist. Für die höheren DS-Werte (40-80%) ist der Endwert jedoch nahezu konstant. Das kann damit erklärt werden, dass durch die höhere Anzahl an reaktiven Aminogruppen, mehr Polymer kovalent an der Faseroberfläche gebunden werden kann. Dies spiegelt auch die Ergebnisse aus Kapitel 4.6.3 wider.

Zusammenfassend kann zu der Waschbeständigkeit gesagt werden, dass ein einmaliges Waschen mit Tensiden notwendig ist, um überschüssiges, nicht kovalent gebundenes Ausrüstungspolymer zu entfernen. Lediglich bei den Polymeren mit hohem Substitutionsgrad (DS_80) ist die Ausrüstung direkt waschbeständig. Weitere Waschzyklen führen dagegen zu keiner weiteren signifikanten Reduktion, was darauf schließen lässt, dass die verbliebene Ausrüstungsschicht waschbeständig ist.

Ähnliche Ergebnisse wurden auch mit der Ausrüstung von PVAm-SB1 erreicht (vgl. Abbildung 72).

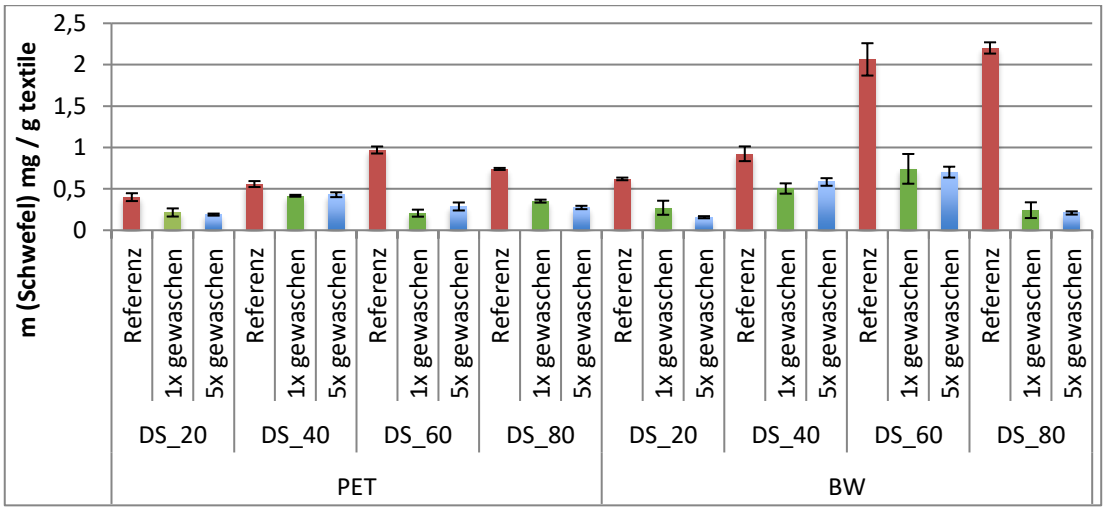


Abbildung 72: ICP-Ergebnisse der Schwefelbestimmung von ungewaschenen Referenzen (rot) und gewaschenen (1 Waschzyklus: grün; 5 Waschzyklen: blau) von BW- und PET-Proben, die zuvor mit PVAm-g-SB1 ausgerüstet wurden.

Ergebnisse der gewaschenen Proben für die Lipaseadhäsion

Die Ergebnisse der Waschtests zeigten, dass nach einem Waschzyklus mit tensidhaltigem Wasser ein Teil des primär anhaftenden Ausrüstungspolymers entfernt wird und danach ein konstanter, kovalent gebundener Anteil zurückbleibt. Um den Einfluss des Waschens auf die Proteinadhäsion zu untersuchen, wurden die gewaschenen Proben nochmals auf ihre Lipaseadhäsion getestet. Dazu wurden zunächst nur die Referenzproben, also unausgerüstete BW- und PET-Proben, mit dem anionischen Tensid (Natriumstearat), dem nicht ionischen Tensid (Alkyl-PEG) und dem ECE-Waschmittel gewaschen um die Lipaseadhäsion zu testen. Auf diese Weise sollte überprüft werden, ob sich eventuell Tenside oder Waschmittelbestandteile auf der Oberfläche ablagern und schon dadurch einen positiven oder negativen Effekt auf die Adhäsion ausüben.

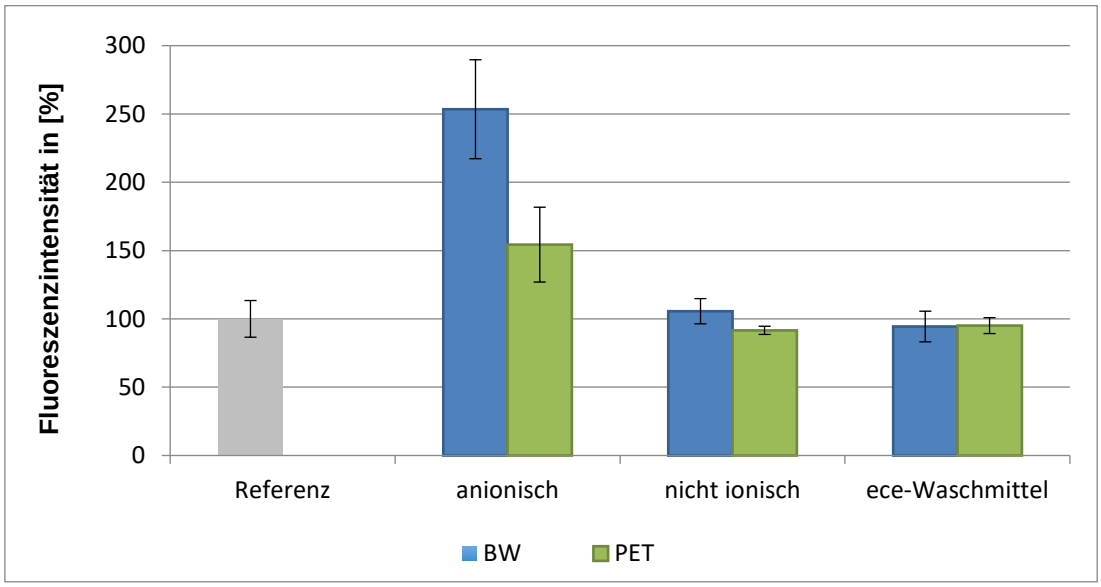


Abbildung 73. Auswirkung der einzelnen Tenside und des ECE-Waschmittels auf die Lipaseadhäsion der Rohgewebe.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen, dass sowohl für BW als auch für PET das Waschen mit dem anionischen Tensid zu einer verbesserten Lipaseadhäsion führt, d.h. es lagert sich nach dem Waschen mehr Protein an als auf die jeweiligen Referenzgewebe. Für BW erhöht sich der Wert um das 2.5-fache, während für PET eine 1.5-fache bessere Adsorption gemessen wird. Ein Grund dafür könnte sein, dass das anionische Tensid nicht restlos durch das Waschen mit dest. Wasser von der Oberfläche entfernt wird und

der hydrophobe Rest des Natriumstearats zu einer Hydrophobierung der Oberfläche führt. Bei der Lipase handelt es sich ebenfalls um ein hydrophobes Enzym, wodurch eine stärkere Anhaftung begünstigt wäre. Wird das nicht ionische Tensid oder das ECE-Waschmittel verwendet, ändern sich die Adhäsionswerte dagegen nicht signifikant. Das lässt darauf schließen, dass hier die Tenside und Waschmittelbestandteile nahezu rückstandslos von dem Textil durch das Nachwaschen mit dest. Wasser entfernt werden können.

Für die folgenden Ergebnisse der Waschtests mit ausgerüsteten Geweben wird folglich davon ausgegangen, dass die durchgehend höheren Adsorptionswerte für das anionische Tensid auf das Anhaften der Tensidmoleküle zurückzuführen ist.

Für die Proteinadsorptionsmessungen mit ausgerüsteten Geweben wurden gewaschene Proben verwendet, die 5. Waschzyklen unterworfen wurden. In den beiden Darstellungen der Ergebnisse (Abbildung 74 und Abbildung 75) sind als grauer Balken jeweils die Werte für das PET- bzw. BW-Rohgewebe dargestellt. Der jeweils dunkel gefärbte, farbige Balken stellt die zuvor ermittelten Adhäsionswerte direkt nach der Ausrüstung dar. Die helleren Balken der jeweiligen Farbe sind die neuen Werte für die entsprechenden Textilien nach dem 5. Waschgang mit dem entsprechenden Waschmittel.

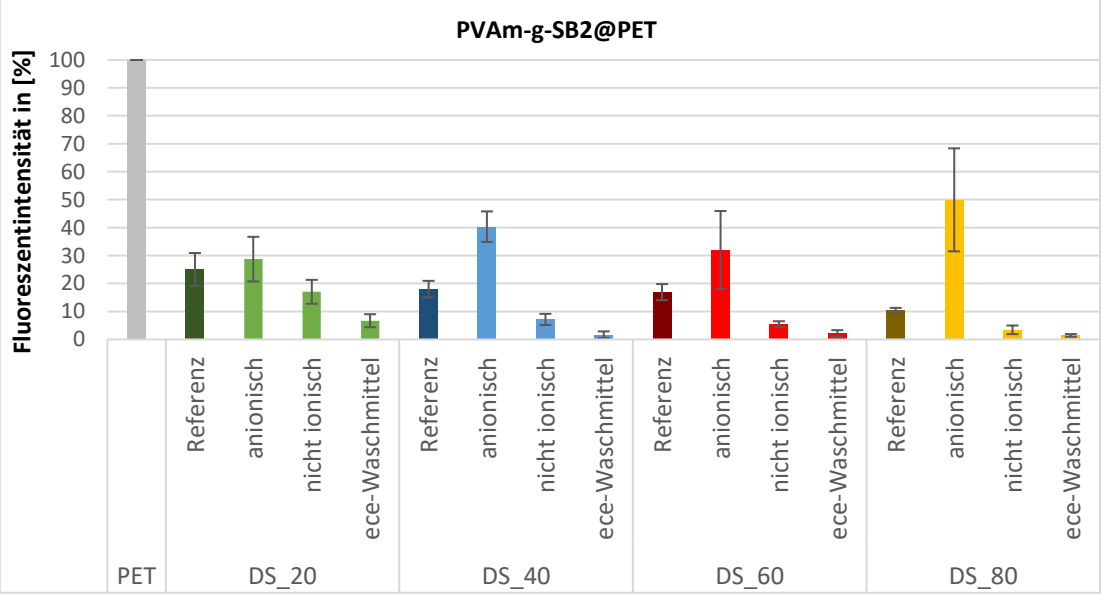


Abbildung 74. Lipaseadhäsion der gewaschenen PET-Proben, ungewaschen (Referenz) und nach 5 Waschzyklen mit verschiedenen Tensiden.

Für die PET-Proben ergab sich, dass alle gewaschenen Proben eine bessere antiadhäsive Wirkung aufweisen als die unbehandelte PET-Referenz. Allerdings sind die Werte für alle Proben, die mit dem anionischen Tensid behandelt wurden, zum Teil deutlich höher als die der nicht gewaschenen Proben. Wie oben beschrieben beruht dies auf der Adhäsion des anionischen Tensids an die Faseroberfläche (Abbildung 73). Auffällig ist hingegen, dass sich die Fluoreszenzintensitäten der Proben, die mit dem nichtionischen Tensid oder dem ECE-Waschmittel gewaschen wurden, sogar noch geringer waren als die der jeweiligen Referenzproben direkt nach der Ausrüstung. Das bedeutet, dass sich die antiadhäsiven Eigenschaften der Beschichtung durch das Waschen und damit durch den Massenverlust noch weiter verbessert haben muss. Dies führt dazu, dass vor allem für DS > 20% nur noch äußerst geringe Mengen Lipase detektiert wurden, wobei durchweg die besten Ergebnisse bei Verwendung des ECE-Waschmittels erzielt wurden.

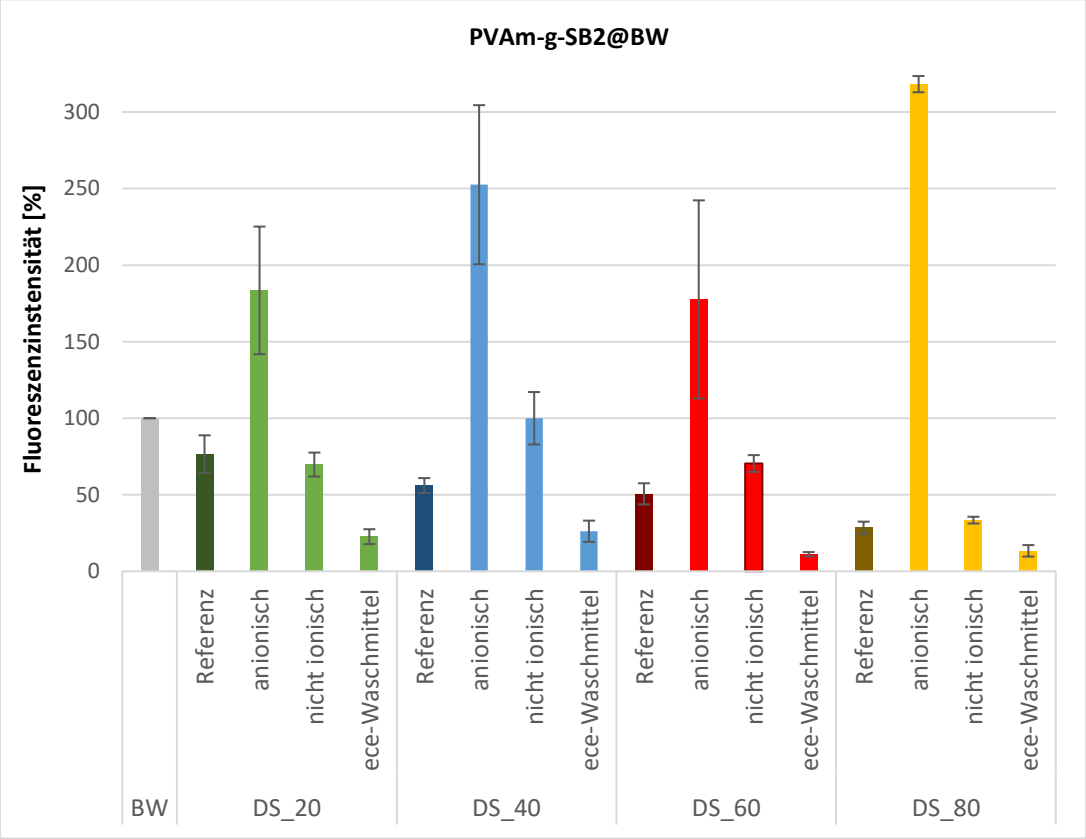


Abbildung 75. Lipaseadhäsion der gewaschenen BW-Proben ungewaschen (Referenz) und nach 5 Waschzyklen

Werden die Ergebnisse der BW-Proben (Abbildung 75) mit den Ergebnissen der PET-Proben verglichen, so fällt auf, dass grundsätzlich der gleiche Trend zu beobachten ist.

Von den gewaschenen Proben weisen diejenigen, welche mit dem anionischen Tensid gewaschen wurden, die größte Proteinadhäsion auf, die durchgehend sogar deutlich über den Werten für die unbehandelte BW liegen. Die Proben, die mit dem nichtionischen Tensid gewaschen wurden, liegen hier im Unterschied zum PET im Bereich der nichtgewaschenen ausgerüsteten Proben, während erneut die mit Abstand besten Ergebnisse bei der Behandlung mit ECE-Waschmittel erreicht werden. Hier liegen die Werte durchgehend unter denen für die nichtgewaschenen Proben, wobei basierend auf den Fluoreszenzintensitäten die Proteinadsorption auf ca. 10–25% im Vergleich zum BW-Rohgewebe reduziert werden.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass durch eine Modifikation von Polyvinylamin mit Sulfobetainen, speziell mit SB2, Ausrüstungspolymere erhalten werden, die sowohl für BW als auch für PET für eine Verbesserung der antiadhäsiven Eigenschaften genutzt werden können. Bei der Ausrüstung von PET genügt sogar schon das PVAm-g-SB2-Derivat mit DS = 20, um eine deutliche Reduktion der Proteinadhäsion hervorzurufen. Auch für ausgerüstete BW kann durch die Erhöhung des DS eine stetig besser werdende, nicht haftende Oberfläche geschaffen werden. Erfreulich ist zudem, dass die Proteinadhäsion nach fünf Waschzyklen nach DIN-Norm mit einem ECE-Standardwaschmittel sogar noch weiter reduziert werden konnte. Bei der Behandlung nur mit einem anionischen Tensid muss auf der anderen Seite beachtet werden, dass hier die Wirkung der Ausrüstung negativ beeinflusst wird, vermutlich aufgrund der Adsorption des hydrophoben Tensids an die Faseroberfläche.

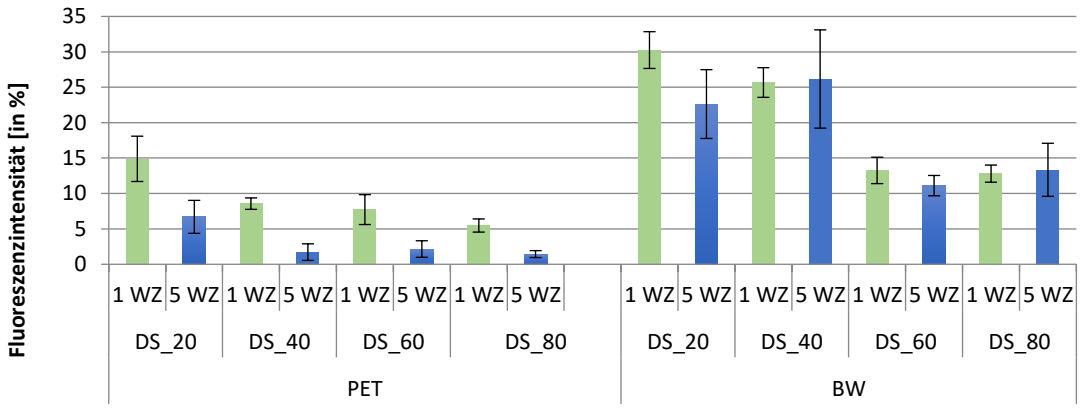


Abbildung 76: Vergleich der Fluoreszenzintensität beim Lipasetest nach 1 WZ und nach 5 WZ für PET und BW

Bei der Analyse der Werte für die Lipaseadhäsion nach 1 WZ und nach 5 WZ (Abbildung 76), kann festgestellt werden, dass die Lipaseadhäsion für die BW-Proben auf ähnlichem Niveau liegen und die Unterschiede innerhalb des Fehlerbalkens sind. Bei den PET-Proben hingegen ist deutlich zu erkennen, dass die Lipaseadhäsion durch weitere Waschgänge noch weiter verringert wird, obwohl sich an der Massenauflage nichts mehr ändert

Für Beschichtungen mit PVAm-g-SB1 (vgl. Abbildung 77) ist sowohl für PET- als auch für BW-Proben zu erkennen, dass lediglich die Ausrüstungen mit einem DS von 40, 60 und 80 % nach dem Waschen eine geringere Fluoreszenzintensität und damit eine verringerte Lipaseadhäsion aufweisen. Für Gewebe, welches nur mit PVAm und mit PVAm-g-SB1_20 beschichtet ist, befindet sich die Adhäsion nach dem Waschen in einem ähnlichen Bereich wie vor den Waschgängen.

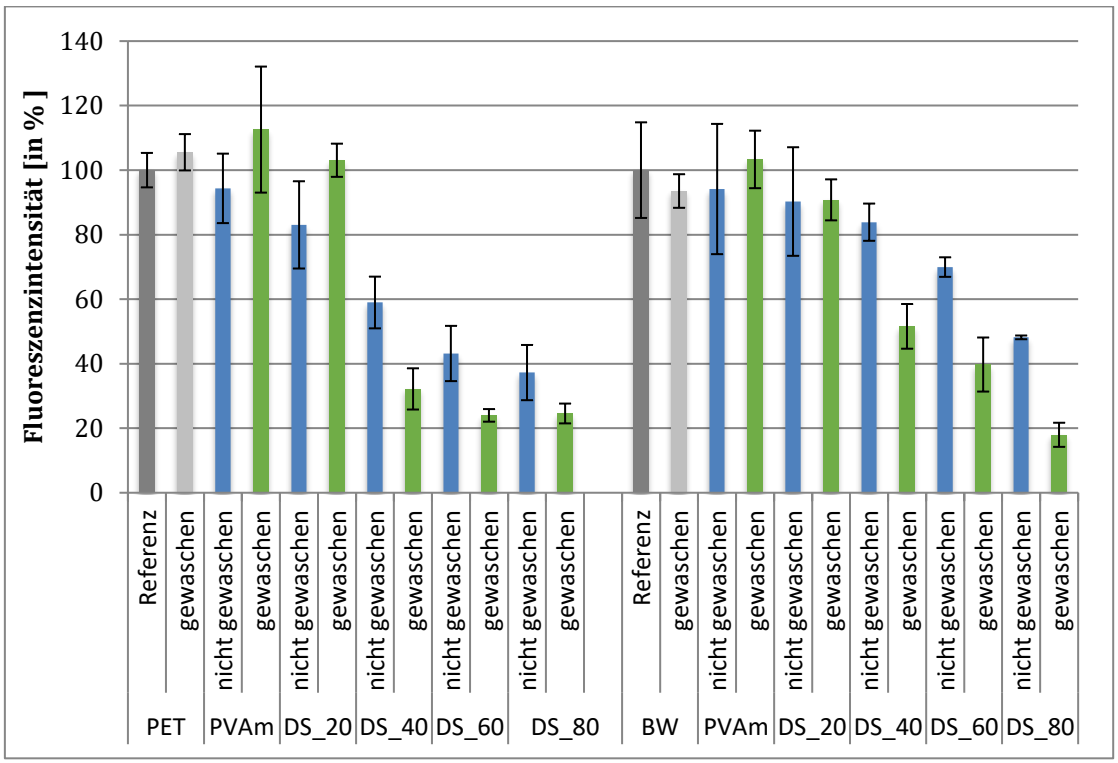


Abbildung 77: Fluoreszenzintensitäten für gewaschene PET und BW Proben, welche mit PVAm-g-SB1 ausgerüstet wurden

4.8.2 Bestimmung des Weißgrads

Ein Nachteil von aminhaltigen Beschichtungen ist häufig der entstehende Gelbstich nach dem Fixieren auf dem Textil. Daher wurde der Weißgrad von den Referenzgeweben bestimmt und mit den Weißgraden der Beschichtungen verglichen, um mögliche Verfärbungen quantifizieren zu können. Generell gilt in der Textilbranche eine Weißgrad um 80 als „gut".

Tabelle 18. Weißgrad (nach Berger) der Referenzen und der ausgerüsteten Proben

	Weißgrad		Weißgrad
PET	85,75	BW	85,29
Lupamin® 1595	84,89	Lupamin® 1595	78,84
Lupamin® 9095	86,16	Lupamin® 9095	78,86
PVAm-g-SB2_20	82,65	PVAm-g-SB2_20	76,39
PVAm-g-SB2_40	85,13	PVAm-g-SB2_40	78,00
PVAm-g-SB2_60	84,34	PVAm-g-SB2_60	78,24
PVAm-g-SB2_80	84,85	PVAm-g-SB2_80	78,17
PVAm-g-SB1_15	83,67	PVAm-g-SB1_15	77,63
PVAm-g-SB1_30	84,02	PVAm-g-SB1_30	69,47
PVAm-g-SB1_60	71,59	PVAm-g-SB1_60	62,78
PVAm-g-SB1_80	68,95	PVAm-g-SB1_80	60,99
PVAm-g-SB1_90	72,11	PVAm-g-SB1_90	60,27

Der Weißgrad von PET wird durch die Ausrüstung mit PVAm nicht reduziert (Tabelle 18). Auch durch die Ausrüstung mit PVAm-g-SB2 Derivaten wird der Weißgrad nicht negativ beeinträchtigt. Visuell betrachtet kann ebenfalls kein Unterschied zwischen den

Proben festgestellt werden. Werden die Proben jedoch mit PVAm-g-SB1 beschichtet, fällt auf, dass der Wert für DS>30% deutlich sinkt. Dies kann auch visuell mit dem Auge beobachtet werden, da die Proben mit DS=60, DS=80 und DS=90% einen leicht gelblichen Schein aufweisen.

Die gleichen Tendenzen werden für die BW Proben gemessen. Auch hier schneiden die PVAm-g-SB1 Proben mit einem hohen DS schlechter ab und weisen alle einen leichten Gelbstich auf. Auffällig ist jedoch, dass die Werte für den Weißgrad bei BW für die beschichteten Proben niedriger liegt als bei dem Rohgewebe. Visuell ist der Unterschied allerdings nur sehr schwach zu erkennen. Die Proben weisen eher einen leichten „graustich“ auf und sind nicht wirklich gelblich.

4.8.3 Abrasion

Die BW-Proben, welche mit dem Martindale auf ihre Abrasionsbeständigkeit getestet wurden, sind alle Proben direkt zerstört worden (vgl. Abbildung 78). Selbst bei nur 6 kPa und 1000 Touren, waren alle BW-Proben durchgescheuert. Die verwendete BW ist für diesen Test demnach nicht geeignet, da sie eine Naturfaser ist und mit einem Flächengewicht von gerade mal 110g/m² zu fein ist und deshalb nicht so robust ist wie eine Synthesefaser.

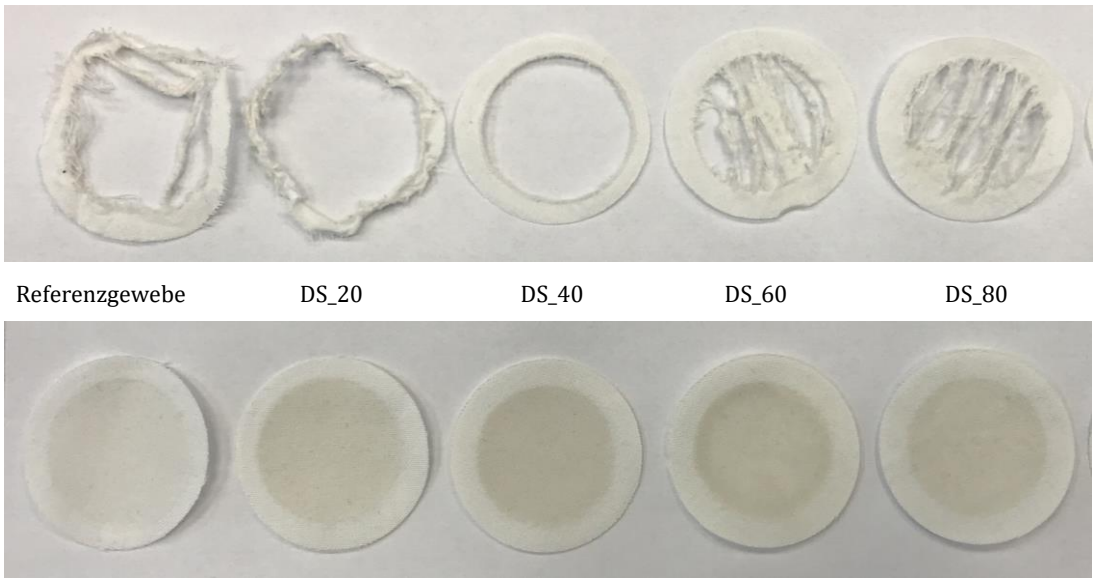


Abbildung 78: BW (oben) und PET (unten) nach dem Abrasionstest

Aus diesem Grund können nur die Ergebnisse der PET-Proben ausgewertet werden. Auf den ersten Blick ist zwischen den verschiedenen PET-Proben kaum ein Unterschied zu erkennen (siehe Abbildung 78). Die beschichteten Proben wirken auf der Scheuerfläche etwas dreckiger und dunkler. Dies kann durch den Abrieb von dem fixierten Polymer hervorgerufen werden.

Unter einem Lichtmikroskop sind keine Unterschiede zwischen den gescheuerten Proben zu erkennen. Es weist nichts auf einen großen Abrieb von Fasermaterial hin. Aus diesem Grund wurden die gescheuerten Proben mit TNBS gefärbt (wie in Kapitel 3.3.3 beschrieben) um die PVAm-Beschichtung sichtbar zu machen. So ist gut zu erkennen, ob nur Polymer abgescheuert wurde, oder auch das Gewebe beschädigt wurde. Außerdem sollten deutliche Unterschiede zwischen dem Randbereich der Probe, welcher nicht gescheuert wurde, und der Mitte der Probe erkennbar sein.

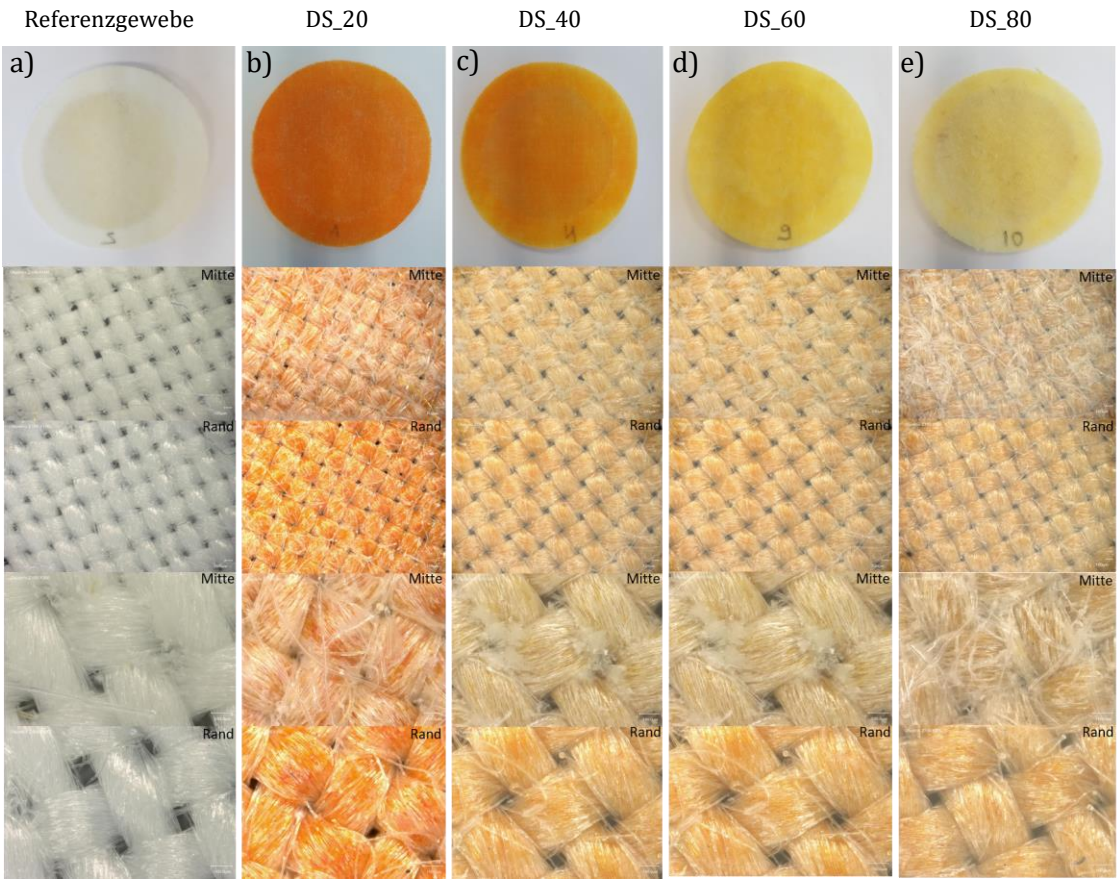


Abbildung 79: Fotographische und mikroskopische Aufnahmen (Vergrößerung: 100x und 300x) der gescheuerten PET-Proben; a) PET unbeschichtet, b) PET-PVAm-SB2_20, c) PET-PVAm-SB2_40, d) PET-PVAm-SB2_60, e) PET-PVAm-SB2_80

In Abbildung 79 sind in der obersten Reihe die fotographischen Aufnahmen der angefärbten und gescheuerten Proben abgebildet. Auf diesen ist ein deutlicher Unterschied zwischen dem gescheuerten Bereich in der Mitte und dem Randbereich nicht zu sehen. Anders ist es hingegen bei den mikroskopischen Aufnahmen der Proben, wo sowohl bei einer 100-fachen als auch bei einer 300-fachen Vergrößerung, deutlich zu erkennen ist, dass die Randbereiche der ausgerüsteten Proben wesentlich stärker gefärbt sind, als die Bereiche in der Mitte. Das zeigt, dass durch das Scheuern ein Großteil der Beschichtung direkt von der Oberfläche abgetragen wurde. Dies ist allerdings auch nicht verwunderlich und bei sehr vielen Ausrüstungsmethoden der Fall. Sollen für bestimme Anwendungsbereiche abrasionsbeständige Beschichtung entwickelt werden, sollte auf Methoden wie der Sol-Gel-Beschichtung zurückgriffen werden [141]. Es ist allerdings auch gut zu erkennen, dass durch die Beschichtung die Faser nicht geschwächt wurde. Auf den Faserknäulen sind eigentlich alle Fasern noch intakt und nicht abgebrochen oder ähnliches. Lediglich ein leichter Abrieb von den Fasersträngen, die vertikal in die Luft stehen und nicht teil eines Faserknäuels waren, sind erkennbar. Dies ist aber auch bei der unbeschichteten Probe der Fall.

5 Fazit

Ziel der vorliegenden Doktorarbeit war es eine multifunktionale Ausrüstung zu entwickeln, welche je nach Anwendungsbereich eher antimikrobielle oder antiadhäsive Eigenschaften aufweisen sollte. Die entwickelte Ausrüstung sollte ebenfalls gut auf Industrieanlagen zu übertragen sein und sowohl für Baumwolle als auch für PET-Gewebe überzeugende Ergebnisse liefern. Außerdem war es bei der Konzeptentwicklung wichtig auf gängige Biozide zu verzichten und eine antimikrobielle Wirkung zu erzielen ohne die Umwelt mit Nanopartikeln oder Bioziden zu belasten. Die Wahl für eine dementsprechende Substanz fiel auf Polyamine, da diese gut zugänglich sind, in der Industrie etabliert sind und durch die protonierbaren Aminogruppen eine antimikrobielle Wirkung besitzen.

Die antiadhäsive Komponente sollte demnach mit der antimikrobiellen kombinierbar sein und in gewisser Weise die antimikrobielle Wirkung unterstützen damit die abgestorbenen Zellreste sich nicht auf die Oberfläche ablagern und die antimikrobiellen Komponenten mit der Zeit überdecken und so inaktivieren. Des Weiteren sollte bei der antiadhäsiven Komponente auf PEG-basierte Strukturen verzichtet werden, da diese nicht so langzeitstabil sind und sich z.B. durch UV-Einwirkung mit der Zeit zersetzen.

Die ersten orientierenden Versuche wurden mit verzweigtem PEIm gemacht, da dieses in großen Mengen kommerziell erhältlich ist, in der Industrie viel angewendet wird und dazu noch als Reinstoff erhältlich ist. Als antiadhäsive Komponenten wurde über eine Michael Addition PEGMA als Benchmark, SBMA als kommerziell erhältliches Sulfobetain und ein selbst synthetisiertes Sulfobetain SB1 an das PEIm eingeführt. Eine erfolgreiche Kupplung aller drei Monomere an das PEIm konnte mittels 1H-NMR spektroskopisch nachgewiesen werden. Allerdings konnten für PEGMA und SBMA nur DS von knapp 10% erreicht werden, unabhängig davon wie viel Monomer der Reaktion zugesetzt wurde. Die Addition von SB1 an PEIm war ebenfalls limitiert, jedoch konnten für das Acrylat ein DS von bis zu 36% erreicht werden. Bei der anschließenden Ausrüstung von PET-Gewebe mit den hergestellten PEIm-Derivaten konnte jedoch keine kovalente Verknüpfung hergestellt werden. Durch das Modifizieren des PEIm mit antiadhäsiven Komponenten war nur noch eine geringe Anzahl an zugänglichen Aminogruppen verfügbar, so dass eine Reaktion mit der PET-Faser nahezu ausgeschlossen war. Sowohl mittels ICP-OES als auch mittels REM-EDX, war nach einem Waschschritt kein Schwefel mehr auf der Oberfläche nachzuweisen. Außerdem verfärbte sich das Textil durch die Temperaturbehandlung und dem PEIm gelb. Zusammengefasst führten der geringe

erreichte DS, die starke Vergilbung und vor allem die nicht vorhandene Beständigkeit der Ausrüstung dazu, dass keine weiteren versuche mit PEIm durchgeführt wurden.

Der Hauptteil der vorliegenden Dissertation beschäftigte sich demnach damit PVAm mit Sulfobetainen zu modifizieren und das Polymer, sowie die anschließende Ausrüstung mit Gewebe genauer zu analysieren. PVAm hat einige Vorteile gegenüber PEIm. Das verwendete PVAm liegt zwar nicht als reine Polymerlösung vor, sondern als technisches Produkt, welches unter dem Markennamen Lupamin ® geführt wird. Für die Versuche wurde sowohl ein kurzkettiges PVAm (Lupamin® 1595) als auch ein langkettiges PVAm (Lupamin® 9095) verwendet.

Dadurch ist es jedoch in großen Mengen zugänglich und preiswert. Außerdem ist PVAm das lineare Polymer mit der höchsten Aminogruppendichte, die im technischen Maßstab hergestellt werden kann. Das hat zum Vorteil, dass wesentlich mehr funktionelle Gruppen für die Modifikation und auch für die anschließende kovalente Bindung zum Textil zur Verfügung stehen. Nachdem erste Versuche zur genauen Charakterisierung des technischen Produkts und zur Verwendung der wässrigen Polymerlösung gemacht wurden, stellte sich heraus, dass für unsere Reaktionen direkt mit der Lupamin ® - Lösung gearbeitet werden kann. Es sind demnach keine Präparationsschritte zur Aufreinigung nötig. Der hohe Fremdsalzgehalt stört die Michael Addition mit den (Meth-)Acrylaten nicht und vereinfach die Arbeitsweise um ein Vielfaches. Auch die anschließenden Kupplungsversuche mit PEGMA, SBMA und zwei synthetisierten Sulfobetainen SB1 und SB2 verliefen erfolgreich und es konnten wesentlich höhere DS erzielt werden als bei der Kupplung mit PEIm. Für PEGMA war ein DS von knapp 60% möglich, SBMA konnte mit 20% ins PVAm eingeführt werden und für SB1 und SB2 war sogar ein DS von über 90% möglich. Bei der Herstellung der PEGMA- und SBMA- PVAm-Derivate trat allerdings schon während der Michael-Addition eine sehr starke Gelierung auf, so dass nicht nur der geringe DS sondern, vor allem auch die weitere Handhabung der Reaktionslösung bezüglich der folgenden Ausrüstung, eine Verwendung für wissenschaftliche Versuche unmöglich macht. Aus diesem Grund wurden weitere Versuche ausschließlich mit den beiden selbst synthetisierten Sulfobetainen SB1 und SB2 gemacht. Genauere Untersuchungen zeigten zudem, dass bei den Sulfobetainen SB1 und SB2 der DS über variable Molverhältnisse von PVAm zu Sulfobetain sehr gut gesteuert werden konnte. Diese Erkenntnis erleichterte die Arbeitsweise unheimlich, da auf eine zeitaufwendige anschließende Dialyse der Reaktionslösung zur Aufreinigung verzichtet werden konnte.

Eine waschbeständige Ausrüstung von BW und PET mit den hergestellten PVAm-Derivaten konnte quantitativ mittels ICP-OES und REM-EDX und auch qualitativ mit einer TNBS-Färbung bestätigt werden. Bei der TNBS-Färbung ist sogar durch eine Verringerung der Intensität der Färbung visuell gut sichtbar, dass Textilien mit einem steigenden DS ausgerüstet wurden. Die genaue Massenauflage der Beschichtungen wurde durch ICP-OES ermittelt werden, da eine gravimetrische Bestimmung durch die vermehrte Einlagerung von Wassermolekülen ins Gewebe und vor allen in die Polymerstruktur nicht möglich war. Bei diesen Versuchen zeigte sich deutlich, dass durch die Verwendung von dem langkettigem PVAm (Lupamin® 9095) wesentlich höhere Massenauflagen erreicht werden konnten als mit dem kurzkettigem PVAm. Das liegt daran, das mit jedem einzelnen Ankerpunkt von PVAm zum Textil bei Lupamin® 9095 eine deutlich längere Molekülkette auf die Faseroberfläche kovalent gebunden wird. Bei BW lag die Massenauflage bei Verwendung von Lupamin® 9095 je nach DS bei 1,0% - 2,0%. Für die entsprechenden PET Proben wurde maximal eine Auflage von 1,4% und minimal von 0,2% erreicht.

Der Hauptteil der Dissertation bildete die Charakterisierung der Eigenschaften der ausgerüsteten BW und PET-Gewebe. Hier standen vor allem die Proteinadhäsion und die antibakterielle Wirkung von Vordergrund. Zum Testen der Proteinadhäsion wurde eine eigene Methode entwickelt die es ermöglichte, die ausgerüsteten Textilien schnell und einfach zu untersuchen. Der Theorie nach sollte mit steigendem DS eine Abnahme der Proteinadhäsion zu erkennen sein, da mit steigendem DS auch die Anzahl der antiadhäsiven Komponenten im Polymer steigt. Diese Annahme konnte bestätigt werden. Generell waren die Ergebnisse von PVAm (Lupamin® 9095) welches mit SB2 modifiziert wurde besser als die PVAm-Derivate, welche mit SB1 benutzt wurden. So konnte für BW, welche mit PVAm-g-SB2 ausgerüstet wurde, für die DS = 20% - 80% eine Abnahme der Proteinadhäsion von 12% (DS=20) bis hin zu knapp über 70% (DS=80) erzielt werden. Bei den ausgerüsteten PET-Proben wurde sogar schon mit einem niedrigen DS=20 eine Reduktion der Lipasemenge von über 75% erzielt. Mit weiter steigendem DS bis hin zu DS=80 konnte die Proteinadhäsion im Vergleich zu unbeschichtetem PET sogar auf 10% verringert werden. Auch bei der Proteinadhäsion bestätigte sich, dass die Verwendung von Lupamin® 9095 sinnvoller ist als die Verwendung von Lupamin® 1595. Zwar konnte die Proteinadhäsion trotz der sehr niedrigen Polymerauflagen für BW um ca. 30% verringert werden und für entsprechende PET Proben eine Reduktion von fast 70% erreicht werden, aber eine Verwendung von Lupamin® 1595 als Ausgangspolymerlösung erzielt bei weitem nicht

so hohe Reduktionen wie die von Lupamin® 9095. Aus diesem Grund wurde der Schwerpunkt auf die Verwendung von Lupamin® 9095 gelegt.

Im weiteren Verlauf der Arbeit wurde ebenfalls die bakterielle Adhäsion von *E. coli* mittels Lebend-Tot-Färbung und anschließender Auswertung unter dem Fluoreszenzmikroskop und auch die Fixierung von *E. coli* und *B. subtilis* mit GDA und Auswertung im REM untersucht. Diese beiden Methoden sind aber lediglich qualitativ, da nur repräsentative Bilder ausgewertet werden können. Generell ist aber mit beiden Methoden dieselbe Tendenz wie bei der Proteinadhäsion zu erkennen. Mit steigendem DS haften immer weniger Mikroorganismen an der Oberfläche der Textilien.

Im Gegensatz zu den antiadhäsiven Eigenschaften der ausgerüsteten Proben sollte die antimikrobielle Wirksamkeit der verschiedenen Beschichtungen mit steigendem DS sinken, da immer weniger protonierbare Aminogruppen zur Verfügung stehen. Getestet wurde nach JIS L 1902:2008 sowohl gegen einen gram-negativen Stamm (*E. coli*) und einem gram-positiven Stamm (*S. aureus*). Erst einmal bestätigen die Messungen, dass BW und PET, welche nur mit PVAm ausgerüstet wurden, eine antimikrobielle Wirkung haben und es auf diesen Proben kein Wachstum von *E. coli* und *S. aureus* gibt. Die log-Reduktion von PVAm auf beiden Geweben liegt demnach bei mind. 7-8, je nachdem wie viele Mikroorganismen zu Beginn auf das Textil gegeben wurden. Für *E. coli* ist mit steigendem DS sowohl bei BW als auch bei PET zu erkennen, dass die Reduktion des bakteriellen Wachstums abnimmt. Die ersten beiden Proben mit DS = 20 und DS = 40 sind allerdings noch antimikrobiell wirksam, da die log-Reduktion (log KBE) > 3 ist. Für die beiden hohen DS (60% und 80%) sinkt die log-Reduktion hingegen auf unter 3. Damit liegt maximal noch eine Hemmung des Wachstums für die PET Probe DS=60 vor und alle anderen Proben sind nicht mehr antimikrobiell aktiv. Für den gram-positiven Stamm werden ähnliche Ergebnisse erzielt. Allerdings kann auf den BW Proben selbst bei DS=40 noch kein mikrobielles Wachstum festgestellt werden. Ab DS=60 ist die Reduktion des bakteriellen Wachstums allerdings so gering, dass nicht mehr von einer antimikrobiellen Wirkung gesprochen werden kann. Für die PET Proben verhält es sich ähnlich, allerdings weisen auch hier die Proben mit einem DS = 60 noch eine sehr hohe log-Reduktion von über 6 auf. Erst die Probe mit DS= 80 ist nicht mehr antibakteriell.

Abschließend wurde auch noch gegen ein zweites gram-negatives Bakterium (*K. pneumoniae*), welches in der Medizin auch von großer Bedeutung ist, und ebenfalls gegen einen Hefepilz (*C. albicans*) getestet. Die Ergebnisse für *K. pneumoniae* sind dabei vergleichbar mit den Ergebnissen von *E. coli*. Der Hefepilz hingegen weist selbst bei

DS=80 noch eine log-Reduktion von über 3 auf, was darauf hindeutet, dass der Hefepilz wesentlich empfindlicher auf Kontaktbiozide mit protonierbaren Aminen reagiert.

Mit den ausführlichen Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirkung und zur Proteinadhäsion konnte gezeigt werden, dass es innerhalb dieser Dissertation gelungen ist eine neuartige und variable Ausrüstung zu entwickeln, die je nach Anwendungsbereich an die entsprechenden Anforderungen angepasst werden kann. Die antimikrobiellen und antiadhäsiven Eigenschaften des synthetisierten PVAm-g-SB können über den DS und das Einbringen von Sulfobetainen gesteuert werden. Das Ausgangspolymer ist dabei kommerziell erhältlich und für die Addition der Sulfobetaine ist es nicht einmal nötig, das technische Produkt aufzureinigen. Die anschließende Ausrüstung sowohl von BW als auch von PET erfolgt mittels eines pad-dry-cure Prozesses, der in der Industrie weit verbreitet ist, so dass es nicht nötig ist, normale Ausrüstungsanlagen umzubauen. Ebenfalls wurden weitere Untersuchungen, zB zur zytotoxischen Wirkung gemacht. Die Analysen zeigten, dass die Ausrüstungslösung in hohen Konzentrationen eine zytotoxische Wirkung gegenüber Ciliaten hat, sobald das Polymer aber fest an die Faseroberfläche gebunden ist, keinen Einfluss mehr auf die Zellviabilität der eingesetzten Ciliaten ausüben. Abschließend wurde auch die Waschbeständigkeit der Ausrüstung analog zu DIN EN ISO 105-C06 getestet. Hier konnte gezeigt werden, dass bei einem ersten Waschschritt noch viel von der nicht kovalent gebundenen Beschichtung runtergewaschen werden kann, danach der verbliebene Rest aber kovalent gebunden ist, da sich kein weiterer Masseverlust mehr nachweisen lässt. Auch verliert die Beschichtung durch die Waschgänge nicht an Wirkung. Bei der Proteinadhäsion konnte sogar vor allem für PET eine Verbesserung der Antiadhäsion festgestellt werden. Auch textile Eigenschaften wie der Weißgrad (nach Berger) zeigten gute bis sehr gute Ergebnisse, so dass die Beschichtung keinen großen Einfluss auf die Weißheit der Textilien ausübt und eine leichte Vergilbung, auch visuell, nur bei vereinzelten Proben ganz leicht zu erkennen war.

Durch die vielversprechenden Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind am DTNW gGmbH sogar Folgeprojekte geschrieben und bewilligt worden. Ein Projekt (IGF Vorhaben Nr. 194 EN) in dem es darum geht geruchsadsorbierende Textilien zu entwickeln die zusätzlich antiadhäsiv sind, so dass zum Beispiel Gerüche, die infolge des bakteriellen Abbaus von Schweiß freigesetzt werden, gar nicht erst entstehen. Ein anderes Projekt zum Thema Adsorption von Spurenstoffen aus kommunalen Abwässern, bei dem u. a. die entwickelten betainmodifizierten Polyamine verwendet werden, läuft ebenfalls am DTNW (EFRE 0801464).

6 Exkurs

6.1 Industrieversuche

6.1.1 Thorey Gera Textilveredlung GmbH

Im Verlauf der Projektlaufzeit konnten Ausrüstungsversuche bei der Thorey Gera Textilveredlung GmbH durchgeführt werden, wobei die Materialien ebenfalls von Thorey zur Verfügung gestellt wurden.

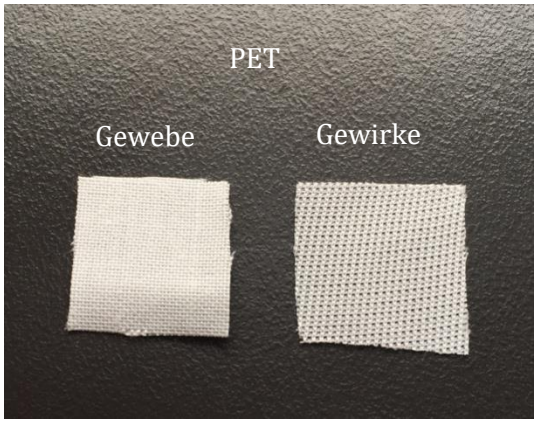


Abbildung 80. Vergleich von Gewebe und Gewirke.

Im Gegensatz zu dem bisher verwendeten PET-Gewebe, wurde hier ein Gewirke als Maschenware ausgewählt (Flächengewicht = 117 g / m^2). Wie auf dem Foto (Abbildung 80) zu erkennen ist, ist das PET-Standardgewebe wesentlich dichter als das hier verwendete Gewirke. So konnte überprüft werden, ob die Oberflächenstruktur von verschiedenen Textilien bei gleichem Fasertyp einen Einfluss auf die Proteinadhäsion ausübt.

Für die Beschichtungen bei Thorey wurden zwei verschiedene Ausrüstungsvarianten verwendet.

1.) PVAm-g-SB2_70, 1 Gew.%ige Lösung

Hierbei handelt es sich um ein mit einem Sulfobetain modifizierten Polymer mit hohem Substitutionsgrad, dass in den vorherigen Versuchen eine antiadhäsive Wirkung gegenüber Bakterien aufwies und dabei nur gering antimikrobiell war. Die Ausrüstungsbedingungen wurden basierend auf den Vorgaben von Thorey modifiziert (siehe unten).

Durchführung

Die Gewirke (Tho-PET) wurden mit einer 1 Gew.%igen Lösung von PVAm-g-SB2_70 ausgerüstet, indem sie zunächst für 2 min in die Ausrüstungslösung getaucht wurden und dann mittels eines Labor-Foulards (Flottenaufnahme jeweils bei ungefähr 54 %) abgequetscht wurden. Anschließend wurden die Proben in einem Labdryer bei 150°C für 2 Minuten fixiert. Die erhaltenen Gewirke wurden mit Wasser ausgewaschen, um überschüssiges nicht kovalent gebundenes Polymer zu entfernen. Da für das so ausgerüstete Gewirke (PVAm-g-SB2_70@Tho-PET) direkt nach der Fixierung, im Vergleich zum Rohmaterial, ein wesentlich festerer Griff resultierte, wurden zusätzlich noch Proben hergestellt, bei denen eine zweifach verdünnte Polymerlösung (0.5 Gew.%) eingesetzt wurde. Die Haptik der so ausgerüsteten Gewirke war nach dem Fixieren deutlich verbessert. Nach dem Waschschritt hingegen konnte kein Unterschied in der Haptik zwischen den beiden verschiedenen Konzentrationen mehr festgestellt werden.

2.) Oberflächenreaktion

Primärausrüstung mit Polyvinylamin (PVAm, 1 Gew.%ige Lösung), Sekundärausrüstung mit einer Acrtylat-Monomerlösung bestehend aus zwei Komponenten (Acrylat mit sulfonathaltiger Seitenkette und Acrylat mit quartärem Amin in der Seitenkette, jeweils 5 Gew.%ig)

Eine weitere Möglichkeit annährend analoge Oberflächen zu erzeugen bietet die Oberflächenreaktion. Hierbei wird die zwitterionische Polymerausrüstung innerhalb von zwei Schritten erzeugt. Als erstes erfolgt eine Primärausrüstung mit Polyvinylamin. Vorgegangen wird wie in Kapitel 3.2.3 beschrieben. So wird eine Textiloberfläche generiert, die eine hohe Anzahl an Aminogruppen trägt und für den zweiten Schritt kann je nach Belieben mit verschiedenen Monomeren, die eine (Meth-)Acrylatgruppe enthalten, modifiziert werden. Die erhaltene Textilbeschichtung sollte der Oberfläche von Textilien, die mit PVAm-g-SB mit hohem DS ausgerüstet wurden, nahekommen.

Im Unterschied zu der bisher durchgeführten Ausrüstung von Textilproben mit Polymer-Lösungen beinhaltet die zweistufige Ausrüstungsvariante zunächst die Modifikation des Polyesters mit Polyvinylamin, wodurch eine große Zahl an Oberflächenaminogruppen generiert wird. Diese reagieren im zweiten Ausrüstungsschritt (Fixiertemperatur 150°C) mit einem Reaktiv-Monomer (Abbildung 81).

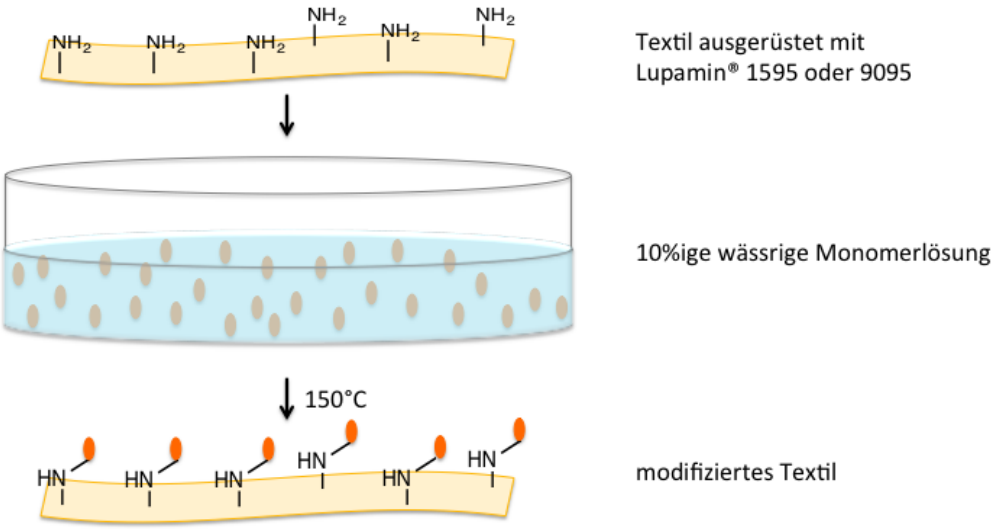


Abbildung 81. Schematische Darstellung der Oberflächenreaktion von Lupamin® - modifizierten Textilien mit reaktiven Monomeren.

In Laborversuchen, die zuvor am DTNW durchgeführt wurden, konnte gezeigt werden, dass solche Oberflächenreaktionen auf Geweben unter Verwendung von Acrylat-Monomeren mit Betainseitenketten (z.B. SB2) realisiert werden können, wobei die Acrylate in Analogie zur Polymersynthese in einer Michael-Reaktion mit den Aminogruppen reagieren. Diese Acrylate sind allerdings bisher entweder noch nicht kommerziell erhältlich oder sehr teuer. Daher wurde versucht, eine zwitterionische Oberfläche durch Reaktion der Oberflächenaminogruppen mit einer Kombination aus zwei kommerziell erhältlichen Acrylaten zu generieren. Dazu wurden als acrylhaltige Monomere ein negativ geladenes Sulfonat (KSPA) und ein positiv geladenes quartanäres Amin gewählt und in jeweils 5 Gew.%igen Anteil in einer wässrigen Lösung kombiniert (Abbildung 82).

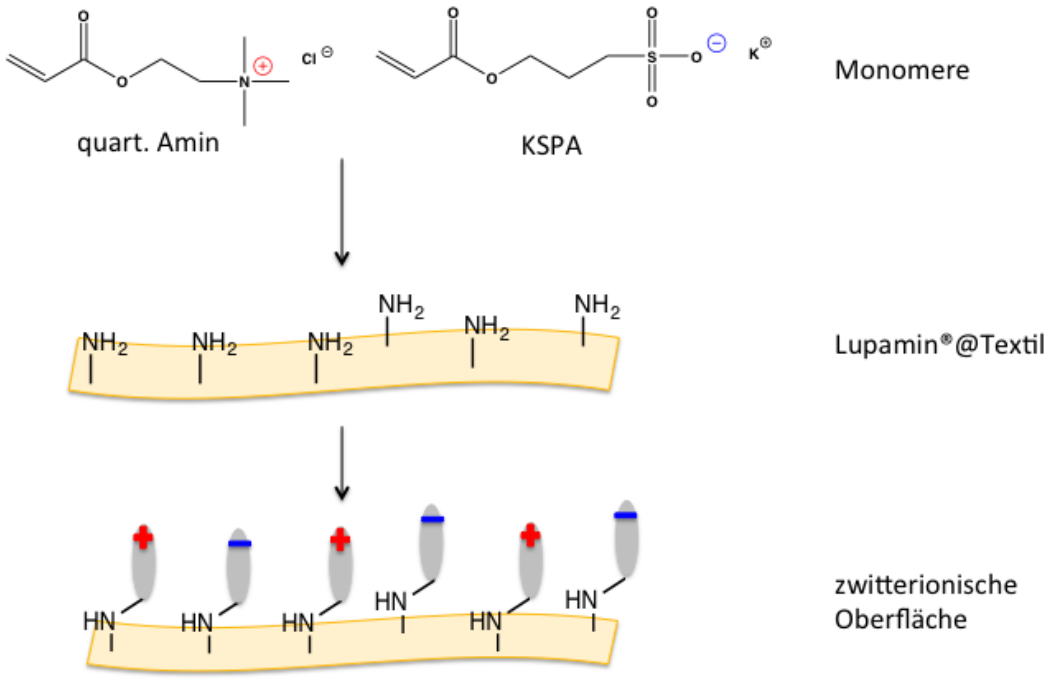


Abbildung 82. Verwendete Monomere für die Oberflächenreaktion und schematische Darstellung der resultierenden zwitterionischen Oberfläche.

Auch ist es möglich Oberflächen zu erzeugen die sowohl kationische als auch anionische Monomere enthalten. Mittels normaler Synthese war dies nicht möglich.

Durchführung

Das Gewirke wurde zunächst mit Polyvinylamin (Lupamin® 9095) ausgerüstet. Hierzu wurde das Gewirke für 2 min in eine 1 Gew.%ige Lupamin® -Lösung getaucht, anschließend foulardiert und schließlich im Labdryer fixiert (150°C, 2 min) und gewaschen. Ein Teil diese Proben (PVAm@Tho-PET) wurde für die anschließende Oberflächenreaktionen verwendet. Dazu wurde das Gewirke in die 10 Gew.%ige Monomerlösung (1:1-Gemisch der Momomere mit Sulfonat bzw. quart. Amin in der Seitenkette) getaucht, foulardiert und 2 min bei 150°C fixiert. Anschließend wurde ebenfalls ausgiebig gewaschen, um überschüssiges, nicht reagiertes Monomer vom Textil zu entfernen (PVAm_mod1@Tho-PET). Für die Hälfte der Proben wurde der gesamte Vorgang nochmals wiederholt, um das Ausmaß der Oberflächenreaktion zu verbessern (PVAm_mod2@Tho-PET). Die Gewirke wiesen nach dem Trocknen einen leichten Gelbstich auf. Dieser wird wahrscheinlich durch das verwendete Amin

verursacht, wobei die Intensität des Gelbstichs unabhängig von der Zahl der Wiederholungen war.

Ergebnisse

Von dem Gewirke (Tho-PET) und den 5 verschieden ausgerüsteten Proben wurde die Proteinadhäsion von Lipase getestet (Abbildung 81). Hierbei zeige sich, dass eine Ausrüstung mit reinem PVAm (PVAm@Tho-PET) auch bei einem Gewirke keine antiadhäsiven Eigenschaften hervorruft. Die Fluoreszenzintensität für das Gewirke mit dem hochsubstituierten PVAm-SB2-Derivat (PVAm-g-SB2_70@Tho-PET, 1 Gew.%) liegt dagegen bei unter 25%, d.h. es haftet nur noch eine geringe Menge an Lipase an der Textiloberfläche. Die Gewirke, die mit der gleichen, jedoch verdünnten Ausrüstungslösung erhalten wurden (PVAm-g-SB2_70@Tho-PET, 0.5 Gew.%) ist die Proteinadhäsion allerdings wieder erhöht, auch wenn immer noch eine Reduktion der Fluoreszenzintensität auf 50% zu beobachten ist, was einer Reduktion der Proteinadhäsion um den Faktor zwei entspricht.

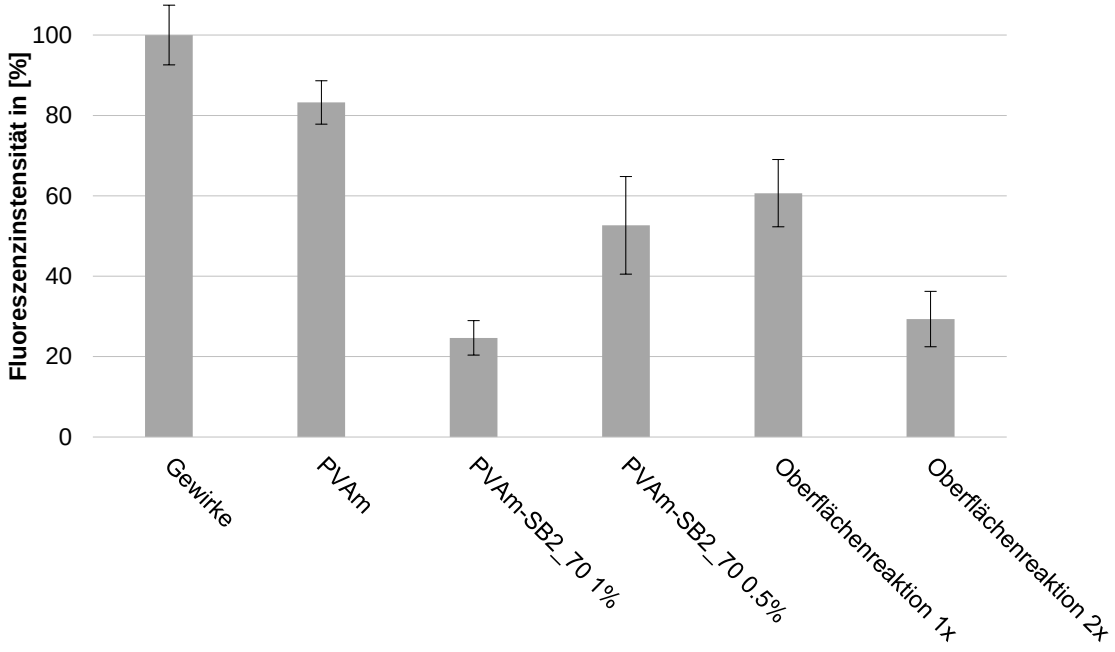


Abbildung 83. Proteinadhäsion von den Versuchen bei Thorey Gera Textilveredlung GmbH

Einen ähnlichen Wert wurde für die Probe ermittelt, die über die Oberflächenreaktion (1 Durchgang) erhalten wurde (PVAm_mod1@Tho-PET). Wird der Vorgang zweimal durchgeführt (PVAm_mod2@Tho-PET), ist deutlich zu sehen, dass sich die Werte der Fluoreszenzintensität nochmals um die Hälfte auf unter 30 % verringern und somit im Bereich des Gewirkes PVAm-g-SB2_70@Tho-PET liegen, das durch Ausrüstung mit dem modifizierten PVAm-Polymer erhalten wurde.

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass sich die Ausrüstungsmethodik, die am DTNW für PET-Gewebe entwickelt wurde, auch auf entsprechen Gewirke übertragen lässt und ähnliche Eigenschaften bezüglich der Proteinadhäsion beobachtet werden. Außerdem deuten die Ergebnisse für die über Oberflächenreaktion erhaltenen Proben darauf hin, dass sich signifikante antiadhäsive Effekte auf Textiloberflächen auch durch Ausrüstungen erreichen lassen, in denen die entgegengesetzt geladenen Komponenten nicht Teil einer Betain-Struktur sind, sondern nebeneinander auf der Oberfläche verteilt sind (siehe Abbildung 81).

6.2 Ausrüstung von Arbeitskleidung (Polizeihemd)

Durch einen Kontakt von Herrn Jörg Brandes (Gesellschaft für Innenraumhygiene mbH [GfI]) war es möglich, eine Ausrüstung von Dienstkleidung aus dem Polizeidienst durchzuführen und diese nach Tragen unter realen Bedingungen auf den mikrobiellen Bewuchs hin zu untersuchen. Hierzu erhielten wir von einem aus Neumünster ein Diensthemd (Kurzarm), das nach erfolgter Ausrüstung von ihm während seiner Dienstzeit getragen wurde.

Das erhaltene Diensthemd wurde auf der Vorderseite in vier Quadranten aufgeteilt. Der obere rechte Quadrant wurde mit dem antimikrobiell wirkenden PVAm (Lupamin® 9095) beschichtet (Abbildung 84). Der obere linke Quadrant wurde nicht behandelt und dient als Kontrolle. Als antiadhäsives Polyamin mit Sulfobetain-Seitenketten wurde das PVAm-g-SB2_80 ausgewählt (unten rechts), während der letzte verbliebene Quadrant mit einem analogen Phosphocholin-Derivat behandelt wurde.

Abbildung 84. Übersicht über die Ausrüstungsvarianten des Diensthemdes.

Da es sich bei dem Polohemd um ein Mischgewebe aus 70% BW und 30% PET handelt, waren Versuche notwendig, um optimale Fixierbedingungen zu ermitteln. Die verschiedenen Varianten wurden anhand der Proteinadhäsion evaluiert. Außerdem wurde das Polohemd von der Vorderseite mit den Lösungen besprüht, um so eine ortsabhängige Ausrüstung zu ermöglichen.

Vorversuche:

Aus dem Saum des Hemdes wurde ein ca. 2 cm breiter Streifen abgeschnitten. Dieser wurde in vier gleich große Stücke aufgeteilt. Diese Streifen wurden mit ECE-Waschmittel gewaschen und getrocknet. Zwei der Stücke wurden in eine Cyanurchloridlösung eingetaucht (1g/L in Aceton), bevor sie anschließend alle mit PVAm-g-SB2_80 eingesprüht und anschließend im Trockenschrank fixiert (150 °C, 8 min) wurden. Jeweils eine Probe mit und ohne Cyanurchlorid-Vorbehandlung wurde danach mit ECE-Waschmittel gewaschen, während die anderen beiden Proben nur mit Wasser gewaschen wurden.

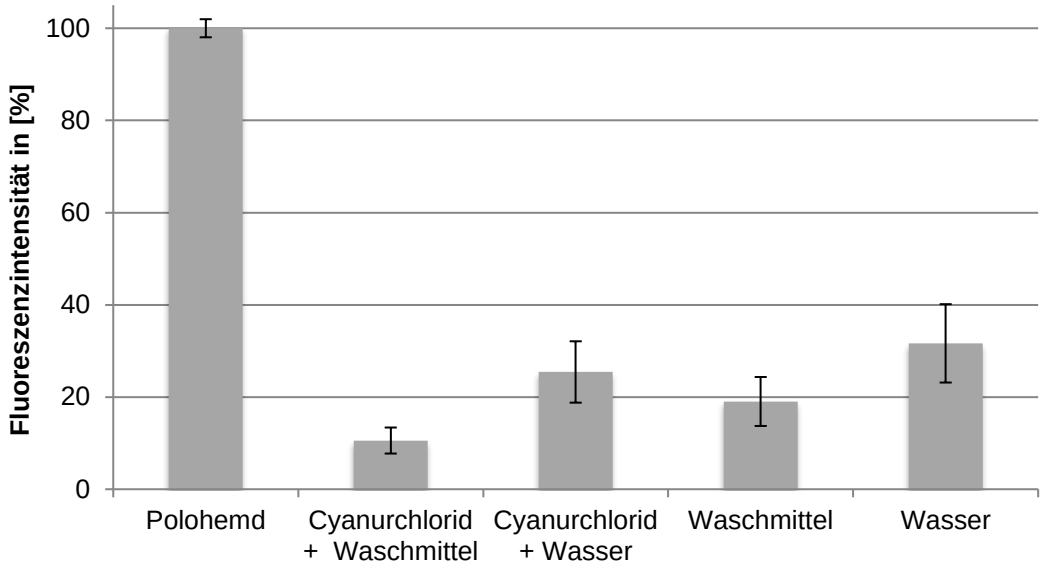


Abbildung 85. Proteinadhäsion der verschieden behandelten Probestücke

Die Auswertung der Proteinadhäsionstests ergab, dass alle Proben durchweg sehr gute antiadhäsive Eigenschaften erzielt wurden (Reduktion von mind. 70%), wobei die besten Ergebnisse für die mit Cyanurchlorid vorbehandelten (Reduktion von 90%) und mit ECE-Waschmittel gewaschenen Proben (Reduktion um 80%) beobachtet wurden (Abbildung 85).

Durchführung:

Vor der Ausrüstung wurde das Hemd gründlich mit ECE-Waschmittel gewaschen. Anschließend wurden die Quadranten wie in Abbildung 84 gezeigt sorgfältig abgeklebt und mit den entsprechenden Polymerlösungen besprüht. Zum Fixieren wurde das besprühte Hemd bei 150°C für 8 Minuten in einen Trockenschrank gelegt. Abschließend wurde es danach zuerst gründlich mit ECE-Waschmittel und danach nochmals mit dest. Wasser ausgewaschen.

Das ausgerüstete Hemd wurde zu Herrn Griffel geschickt, der dieses 1 Woche bei der Arbeit trug. Unter dem Polohemd trug er noch ein t-Shirt. Danach sendete er das getragene Hemd ungewaschen zur Gesellschaft für Innenraumhygiene. Dort wurde das Hemd auf seine Keimbelastungen hin untersucht.

Tabelle 19. Mikrobiologische Untersuchung an dem Polizeihemd

Messpunkt	**Konzentration [KBE / 16 cm²] im Mai 2016**
Kragen außen	33
Kragen innen	145
Achseln links	4
Achseln recht	4
1. Viertel vorne oben links	26
2. Viertel vorne oben rechts	15
3. Viertel vorne unten links	66
4. Viertel vorne unten rechts	66
1. Viertel hinten oben links	88
2. Viertel hinten oben rechts	49
3. Viertel hinten unten links	21
4. Viertel hinten unten rechts	18

In Tabelle 19 sind die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung dargestellt. Es wurden nicht nur die ausgerüsteten Bereiche, sondern auch die anderen nicht ausgerüsteten Bereiche des Polizeihemdes untersucht. Auf dem ersten Blick ist gut zu erkennen, dass die Keimbelastung auf der Krageninnenseite am höchsten ist. Am niedrigsten ist die Keimbelastung allerdings in den Achseln. Dies ist wahrscheinlich auf die Nutzung eines Anti-Transpirant zurückzuführen. Von dem restlichen Hemd ist die Keimbelastung vorne im oberen rechten Quadranten am niedrigsten. Das ist der Quadrant, welcher mit Polyvinylamin ausgerüstet wurde. Da PVAm eine antimikrobielle Wirkung aufweist ist das Ergebnis nicht verwunderlich. Die beiden anderen ausgerüsteten unteren Quadranten weisen hingegen eine höhere Keimbelastung auf. Auf dem ersten Blick kann demnach keine antiadhäsive Wirkung nachgewiesen werden. Allerdings sollte beachtet werden, das vor allem die vorderen unteren Quadranten einer erhöhten Keimbelastung, vor allem durch das Hemd in die Hose stecken und der natürlichen Handhaltung die Hände am ehesten dort abzulegen, ausgesetzt sind. Die

Rückseite des Hemdes weist eine eher geringe Keimbelastung auf, was auch zu erwarten war.

Zusammenfassend kann aus dem Versuch leider keine genaue Aussage über die Effizienz der synthetisierten Polyvinylaminderivate gemacht werden. Rückblickend war das angesetzte Experiment etwas zu ambitioniert. Es wurde zu viel auf einmal zu getesten, da es nicht möglich war mehrere Polohemden gleichzeitig auszurüsten. Für eventuell folgende Versuche wäre es, nach Interpretation dieser Ergebnisse, wesentlich sinnvoller z. B. nur einen Halbseitentest mit nur einer Substanz zu machen. Die Belastungen der verschiedenen Bereiche eines Hemdes sind viel zu unterschiedlich, so dass mit der gewählten Quadranteneinteilung, mit verschiedenen Wirkstoffen, die Vergleichbarkeit nicht mehr gegeben ist. Außerdem wäre eine Ausrüstung des inneren Kragens sehr sinnvoll, da die Keimbelastung mit Abstand am höchsten ist.

7 Experimenteller Teil

7.1 Chemikalien

Tabelle 20. Übersicht der verwendeten Chemikalien

Chemikalien / Materialien	Hersteller	Bemerkung
(2-(Methacryloyloxy)ethyl)-dimethyl-(3-sulfopropyl)-ammoniumhydroxid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	
[2-(Acryloyloxy)ethyl]trimethyl-ammoniumchlorid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	Lösung; 80 %
1,3-Propansulton	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	≥ 99 %
1,4-Butansulton	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	≥ 99 %
2-Methacryloyloxyethylphosphoryl-cholin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	enthält ≤ 100 ppm MEHQ als Inhibitor, 97%
2-Propanol	Carl Roth GmbH + Co. KG	≥ 99,5 % zur Synthese
2,4,6-Trinitrobenzolsulfonsäure	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	1 M in Wasser
3- Sulfopropylacrylat Kaliumsalz	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	
3-(Dimethylamino)-1-propylamin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	99 %
3-Sulfopropylmethacylat Kaliumsalz	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	98 %

Acetonitril	Carl Roth GmbH + Co. KG	Rotisolv ≥ 99,8 %, für die präparative HPLC
Ampicillin	Carl Roth GmbH + Co. KG	
Arabinose	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	≥ 98 %
Bacillus subtilis	DMS 21097	
Bernsteinsäureanhydrid	Carl Roth GmbH + Co. KG	≥ 99 %, p.a., ACS
Bromessigsäure	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	≥ 98 %
Candida albicans	ATCC 10231	
Chloressigsäure	Merck Millipore	
Chloroform	Carl Roth GmbH + Co. KG	Rotipuran ≥ 99 %, p. a.
Chloroform-d1	Deutero GmbH	99,8 %
Cyanurchlorid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	≥ 99 %
Deuteriumoxid	Deutero GmbH	99,9 %
Di-*tert*-butyldicarbonat	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	ReagentPlus, 98 %
Dimethylsulfoxid	Merck Millipore	zur Synthese
Dinatriumhydrogenphosphat	Carl Roth GmbH + Co. KG	≥ 98 %, Ph.Eur., USP, wasserfrei

ECE-Farbechtheits-Testwaschmittel 77	wfk Testgewebe GmbH	phosphathaltig, entsprechend DIN EN ISO 105-C06
Escherichia coli	DSM 5923	
Escherichia coli pGLO	DSM 5923	fluoreszierendes Protein an der HSNR eingeführt
Essigsäureethylester	Carl Roth GmbH + Co. KG	ROTISOLV ≥ 99,9 %, Pestilyse plus
Ethanol	Acros Organics	99,5 %, Extra Dry, AcroSeal
Ethanol	AppliChem GmbH	96 % denatured with 1% MEK Technical grade
Fluoresceindiacetat	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	
Glutardialdehyd	Carl Roth GmbH + Co. KG	Lösung, 25 %
Hefeextrakt	Carl Roth GmbH + Co. KG	Oxoid L21
Kaliumhydroxid	Carl Roth GmbH + Co. KG	Plätzchen
Klebsiella pneumoniae	ATCC 4352	
Lipase Typ VII	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	Candida cylindracea
Lupamin® 1595	BTC Europe GmbH	Mw ≈ 10,000

Lupamin® 9095	BTC Europe GmbH	Mw ≈ 350,000
Marlipal O 13/80	Sasol	Isotridecanol, ethoxylated 7 - 15 % EO
Methanol	Carl Roth GmbH + Co. KG	ROTIPURAN ≥ 99,9 %, p. a., ACS, ISO
Methylenchlorid	Carl Roth GmbH + Co. KG	≥ 99,5 %, zur Synthese
N-[3-(Dimethylamino)propyl]acryl-amid	WAKO Chemicals	≥ 98 %, stabilisiert mit MEHQ
Natriumchlorid	Carl Roth GmbH + Co. KG	
Natriumdihydrogenphosphat	Merck Millipore	Monohydrat
Natriumhydroxid	Carl Roth GmbH + Co. KG	≥ 99 %, p.a., ISO, Perlen
Natronlauge	Carl Roth GmbH + Co. KG	(2 N) 2 mol / L - 2 N Maßlösung
Pepton aus Casein	Carl Roth GmbH + Co. KG	
Poly(ethyleneglycol)methyl-ethermethacrylat	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	Mn = 500, enthält 100 ppm MEHQ als Inhibitor u. 200 ppm BHT als Inhibitor
Polyethylenimin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	branched average Mw ≈ 25,000 by LS, average

		Mn ≈ 10,000 by GPC, branched
Polyvinylamin Hydrochlorid	Polysciences	≥ 95 %
Propidiumiodid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	≥ 94 % (HPLC)
Proteose Pepton	Thermo Fisher Scientific	Oxoid L21
Salpetersäure	Carl Roth GmbH + Co. KG	Supra-Qualität Rotipuran Supra, 69 %
Salzsäure	Carl Roth GmbH + Co. KG	Rotipuran ≥ 32 %, p. a., ISO
Staphylococcus aureus	ATCC 6538	
Stearinsäure	Merck Millipore	zur Synthese
SYBR Green I	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	10,000 x in DMSO
Tetrahymena pyriformis	Icon Biotech	
Triethylamin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	≥ 99.5 %

7.2 Geräte und Verbrauchsmaterialien

Tabelle 21: Übersicht der Geräte und Verbrauchsmaterialien

	Hersteller	Bemerkung
Baumwollgewebe	TESTEX GmbH & Co. KG	Flächengewicht 110 g/m², alkalisch abgekocht, gebleicht und entschlichtet
Polyestergewebe	wfk - Cleaning Technology Institute e.V.	Flächengewicht 170 g/m²
ZelluTrans, Dialysemembran	Carl Roth GmbH + Co. KG	MWCO 3.500
Laborspannmaschine	Mathis AG	
ICP-OES-Gerät Modell 720-ES	Varian	λ (S = 181.972 nm; P = 178.287 nm)
MarsXpress	CEM	Mikrowellenaufschluss
Linitest-Gerät	ATLAS	
Spektralphotometer SPH850	ColorLite	
Plattenreader	GENius Tecan Group Ltd.	
Kalorimeter Model 450	TRONAC	
Fluoreszenzmikroskop Biozero BZ8100E	Keyence	
REM-EDX	Hitachi High-Technologies Europe GmbH	S-3400N II

Lichtmikroskop	KEYENCE	
NMR	Bruker	
IR	Shimadzu	IR Prestige 21
Vortex	IKA Genius 3	
Schüttler	Stuart Scientific	
NMR Röhrchen	DEUTERO	

7.3 Puffer und Medien

Phosphatpuffer (100mM; pH = 7.2)

Di-Natriumhydrogenphosphat	50 mMol
Natriumdihydrogenphosphat	50 mMol

Medien für Bakterien

LB Medium (Lysogeny Broth)

Pepton aus Casein	10 g/L
Hefeextrakt	5 g/L
Natriumchlorid	10 g/L

LB Ara Amp Medium (Lysogeny Broth)

Pepton aus Casein	10 g/L
Hefeextrakt	5 g/L
Natriumchlorid	10 g/L
Ampicilin	
Arabinose	

Ciliaten

Die verwendeten Ciliatenkulturen stammen aus einer Langzeitstammhaltung in Proteose Pepton Hefeextrakt (PPY) Medium. Die für die Experimente verwendeten Kulturen wurden in verschiedene Nährmedien überführt.

PPY Medium - Langzeitstammhaltung

Proteose Pepton	10 g/L
Hefeextrakt	5 g/L

Medium C1

Proteose Pepton	5 g/L
Pepton aus Casein	5 g/L
Di-Natriumhydrogenphosphat	0.2 g/L

Medium C2

Proteose Pepton	20 g/L
Hefeextrakt	2.5 g/L

7.4 Allgemeine experimentelle Details

Für die Bestimmung der Materialeigenschaften wurde das Gewebe unter Laborklima konditioniert (24 h, 21 °C, ca. 35% Luftfeuchtigkeit).

7.4.1 Dialyse

Bei den zur Dialyse verwendeten Schläuchen handelt es sich um ZelluTrans Dialyseschläuche aus regenerierter Zellulose von der Firma Carl Roth mit verschiedenen MWCO. Von dem Dialyseschlauch wurde eine entsprechende Länge abgeschnitten und unter dest. Wasser befeuchtet und durchspült. Die zu dialysierende Flüssigkeit wurde in den Schlauch gefüllt und mit Verschlussklemmen gut verschlossen. Der befüllte Dialyseschlauch wurde mind. in die 50-fache Menge Milli-Q Wasser gehängt und leicht gerührt. Das Dialysewasser wurde mehrmals gewechselt.

7.4.2 Gefriertrocknung

Die Gefriertrocknung wurde bei den ersten Versuchen der Modifizierung der Polyamine genutzt, um sicherzustellen, dass das erhaltene Polymer wasserfrei ist um es besser charakterisieren zu können. Es wurde die Gefriertrocknungsanlage ALPHA 1-4 von Christ verwendet. Die zuvor am Rotationsverdampfer eingeengte Polymerlösung wurde im Rundkolben für mind. 24 h gefriergetrocknet.

7.5 Synthese der Betaine

7.5.1 Synthese der Sulfobetaine SB1 – SB4

4.3.1.1 1-Propanaminium-N,N-dimethyl-N-[3-[(1-oxo-2-propen-1-yl)amino] propyl]-3-sulfonat, inneres Salz SB1

N-[3-Dimethylaminopropyl]acrylamid (1, 4.93 mL, 30 mmol) wurde gelöst in Acetonitril (10 mL) vorgelegt. Propan-1,3-sulton (2, 2.64 mL, 30 mmol) in 5 mL Acetonitril gelöst wurde hinzugegeben und die Mischung 24 h bei RT stark gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde mit einer Nutsche abgesaugt und der Rückstand mehrmals mit etwas Acetonitril gewaschen. Der Feststoff wurde im Trockenschrank getrocknet (30°C, Vakuum), woraufhin das Betain SB1 (7.85 g, 95%) als weißes Pulver erhalten wurde.

^{1}H NMR (300 MHz, D_2O) δ/ppm = 6.11 (m, 2H, $\underline{CH_2}$=CH–CO–); 5.66 (dd, 1H, J = 3 and 9 Hz, CH_2=$\underline{CH}$–CO–); 3.36 (m, 2H, –N(CH_3)$_2$–$\underline{CH_2}$–CH_2–CH_2–SO_3); 3.23–3.29 (m, 4H, –NH–

$\underline{CH_2}$–CH_2–$\underline{CH_2}$–$N(CH_3)_2$–); 2.99 (s, 6H, –$N(\underline{CH_3})_2$–); 2.86 (t, 2H, J = 2 Hz, –$\underline{CH_2}$–SO_3); 2.10 (m, 2H, –$\underline{CH_2}$–CH_2–SO_3); 1.93 (m, 2H, –NH–CH_2–$\underline{CH_2}$–)

4.3.1.2 1-Butanaminium, N,N-dimethyl-N-[3-[(1-oxo-2-propen-1-yl)amino] propyl]-4-sulfonat, inneres Salz SB2

N-[3-Dimethylaminopropyl]acrylamid (1, 4.93 mL, 30 mmol) wurde gelöst in Acetonitril (10 mL) vorgelegt. Butan-1,4-sulton (3, 4.69 g, 30 mmol), welches in 5 mL Acetonitril gelöst wurde, wurde hinzugegeben und die Mischung 24 h bei RT stark gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde mit einer Nutsche abgesaugt und der Rückstand mehrmals mit etwas Acetonitril gewaschen. Der Feststoff wurde im Trockenschrank getrocknet (30°C, Vakuum), woraufhin das Betain SB2 (6.58 g, 75%) als weißes Pulver erhalten wurde.

^{1}H NMR (300MHz, D_2O) δ/ppm = 6.11 (m, 2H, $\underline{CH_2}$=CH-CO-); 5.66 (dd, 1H, J=3 and 9Hz, CH_2=$\underline{CH}$-CO-); 3.18 - 3.27 (m, 6H, -NH-$\underline{CH_2}$-CH_2-$\underline{CH_2}$-$N(CH_3)_2$-$\underline{CH_2}$-); 2.95 (s, 6H, -$N(\underline{CH_3})_2$-); 2.84 (t, 2H, J=2Hz, -$\underline{CH_2}$-SO_3); 1.87-1.97 (m, 2H, -$N(CH_3)_2$-CH_2-CH_2-$\underline{CH_2}$-CH_2-SO_3); 1.74-1.84 (m, 2H, -$N(CH_3)_2$-CH_2-$\underline{CH_2}$-CH_2- CH_2-SO_3); 1.71 (q, 2H, J=3Hz,-NH-CH_2-$\underline{CH_2}$-).

4.3.1.3 3-((3-Aminopropyl)dimethylammonio)propan-1-sulfonat Hydrochlorid SB3•HCl

3-Dimethylaminopropylamin (4, 8.72 mL, 70 mmol) wurde in 40 mL Methanol gelöst und im Eisbad auf 0°C abkühlt. Zu der Lösung wurde Di-*tert*-butyldicarbonat (Boc_2O; 14.19 g, 65 mmol) langsam zugetropft und danach wieder auf RT erwärmt. Nachdem 16 h gerührt wurde, wurde die Reaktionslösung am Rotationsverdampfer eingeengt und anschließend mit dest. Wasser (60 mL) versetzt. Die Mischung wurde mit Essigsäureethylester (4 x 70 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Extrakte anschließend erst getrocknet ($MgSO_4$), filtriert und i. Vak. eingeengt. Das so erhaltene viskose, leicht gelbliche Boc-Derivat 5 (12.13 g) wurde ohne weitere Aufreinigung weiter umgesetzt.

Das Boc-derivat 5 (12.13 g) wurde in Acetonitril (50 mL) gelöst und anschließend mit Sulton 2 (5.72 mL, 65 mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 48 h bei RT gerührt und dann das ausgefallene Produkt über eine Nutsche abgesaugt und mit etwas

Acetonitril gewaschen. Trocknen des Rückstands i. Vak ergab das Boc-geschützte Betain 6 (18.02 g) als farbloses Pulver, das ohne weitere Aufreinigung weiter umgesetzt wurde.

Boc-Derivat 6 (18.02 g) wurde in Wasser (30 mL) gelöst und langsam mit konz. Salzsäure (15 mL) versetzt. Der Ansatz wurde bei RT für 16 h gerührt. Überschüssiges Wasser und Salzsäure wurde am Rotationsverdampfer abgedampft und das Hydrochlorid SB3•HCl anschließend durch mehrmalige Kristallisation des erhaltenen Rückstands aus einem Methylenchlorid/Isopropanol/Methanol-Gemisch (1:1:1) als farbloses Pulver (14.40 g, 85%) erhalten.

^{1}H NMR (300 MHz, D_2O), δ/ppm = 3.55, 3.49 (2 m, 2 X 2 H, $-C\underline{H}_2N^+(CH_3)_2C\underline{H}_2-$), 3.18 (s, 6 H, $-N^+(C\underline{H}_3)_2-$), 3.13 (t, 2 H, $H_3N^+C\underline{H}_2-$), 3.03 (t, 2 H,$-C\underline{H}_2SO_3-$), 2.56 (m, 4 H, $-C\underline{H}_2CH_2N^+(CH_3)_2CH_2C\underline{H}_2-$).

4.3.1.4 1-Propanaminium, 3-[(3-carboxy-1-oxopropyl)amino]-N,N-dimethyl-N-(3-sulfopropyl)sulfonat, inneres Salz SB4

Das Amino-Betain SB3•HCl (7.82 g, 30 mmol) wurde in dest. Wasser (50 mL) gelöst und mit Natronlauge (2N) auf pH = 11 eingestellt, um das freie Amin SB3 zu generieren. Anschließend wurde Bernsteinsäureanhydrid (3.00 g, 30 mmol) hinzugegeben und danach bei RT für mind. 16 h gerührt. Der pH-Wert sollte bei mind. pH = 8 gehalten werden. Nach den 16 h wurde der pH-Wert kontrolliert. Lag der pH-Wert unter pH = 8 wurde mit etwas Natronlauge nachjustiert und nochmals für 4 h gerührt. Sobald der pH-Wert nicht mehr sank, wurde die Mischung mit Salzsäure (2N) auf pH = 6 eingestellt und anschließend am Rotationsverdampfer eingeengt. Der Kolbenrückstand wurde im Trockenschrank (45°C; Vakuum) getrocknet. Es wurde ein weißer Feststoff (7.88 g, 81%) erhalten.

Keine NMR-Daten aus der Literatur verfügbar.

7.6 Modifizierung der Polyamine

7.6.1 Modifizierung von Polyethylenimin (PEI)

Allgemeine Synthesevorschrift zur Umsetzung von PEI mit Acryl- oder Methacryl-Betainen

Es wurde eine 10 Gew.-%ige wässrige Lösung von PEI (rein, verzweigt, Mw = 25,000, 10 g auf 100 mL) angesetzt. Der pH-Wert der Lösung wurde mit Natronlauge (2 N) auf pH = 11 eingestellt. Die verschiedenen (Meth-)Acrylate wurden in unterschiedlichen Molverhältnissen (Verhältnis primäre und sekundäre Amine des PEI zu (Meth-)Acrylat von 1:0.1 - 1:0.5) zur der wässrigen PEI-Lösung hinzugegeben und auf 90°C erhitzt. Anschließend wurde 24 h gerührt. Nach Reaktionsende wurde die Reaktionslösung etwas am Rotationsverdampfer eingeengt und in einen Dialyseschlauch (ZelluTrans, MWCO = 3.500) überführt. Es wurde mind. 36 h, unter mehrmaligem Wassertausch, dialyisert um nicht abreagierte (Meth-)-Acrylate zu entfernen. Der Dialyseschlauchinhalt wird am Rotationsverdampfer eingeengt und anschließend im Kolben an den Gefriertrockner gehangen um das Polymer vollständig zu trocknen.

Der Substitutionsgrad DS der verschiedenen Produkte wurde mittels NMR-Spektroskopie bestimmt.

7.6.2 Modifizierung von Polyvinylamin (PVAm)

Allgemeine Synthesevorschrift zur Umsetzung von PVAm mit Acryl- oder Methacryl-Betainen

Es wurde eine 10 Gew.-%ige wässrige Lösung von PVAm (Lupamin® 9095 oder Lupamin® 1595) angesetzt. Der pH-Wert der Lösung wurde mit Natronlauge (2 N) auf pH = 11 eingestellt. Die verschiedenen (Meth-)Acrylate wurden in unterschiedlichen Molverhältnissen (Verhältnis primäre Amine des PVAm zu (Meth-)Acrylat von 1.0:0.8, 1:0.6, 1:0.5, 1:0.4, 1:0.2) zur der wässrigen PVAm-Lösung hinzugegeben und auf 90°C erhitzt. Anschließend wurde 24 h gerührt. Nach Reaktionsende wurde die Reaktionslösung etwas am Rotationsverdampfer eingeengt und in einen Dialyseschlauch (ZelluTrans, MWCO = 3.500) überführt. Es wurde mind. 36 h, unter mehrmaligem Wassertausch, dialyisert um nicht abreagierte (Meth-)-Acrylate zu entfernen. Der

Dialyseschlauchinhalt wird am Rotationsverdampfer eingeengt und anschließend im Kolben an den Gefriertrockner gehangen um das Polymer vollständig zu trocknen.

Der Substitutionsgrad DS der verschiedenen Produkte wurde mittels NMR-Spektroskopie bestimmt.

Verwendung von Cyanurchlorid als Anker zwischen PVAm und Betain

Herstellung einer Cyanurdichlorid-Mononatriumsalz-Lösung:

Eine Lösung von Natriumhydroxid (4.8 g, 1.2 mol) in Wasser (500 mL) wurde mit einem Eisbad gekühlt und mit Eis (500 g) versetzt. Bei einer Innentemperatur <5°C wurde unter Rühren langsam Cyanurchlorid (110,65 g, 0.6 mol) portionsweise zugesetzt, sodass die Innentemperatur nicht über 5°C stieg. Nach Beendigung der Zugabe wurde weitergerührt, bis das Cyanurchlorid vollständig gelöst und alles Eis geschmolzen war. Während der Reaktion wurde der pH-Wert durch Zugabe von Natronlauge (2 N) auf pH=7 gehalten. Die so hergestellte Lösung wurde kühl bei mind. 7°C gelagert. Vor jedem Gebrauch muss der pH-Wert der Lösung überprüft werden. Liegt dieser im sauren Bereich, oder befinden sich in der Lösung Feststoffanteile, ist es zwingend notwendig eine neue Lösung anzusetzen.

Kupplung des Betains mit PVAm mit einem angestrebten DS = 33 %:

Die wie oben beschrieben hergestellte Cyanurdichlorid-Mononatriumsalz-Lösung (26.3mL, 14 mmol) wurden nach Zugabe des entsprechenden Betains (zum Beispiel SB3 oder CB2; 14 mmol) bei leicht erhöhter Temperatur gerührt (ca. 40°C). Nach 1 h wurde Lupamin® 9095 (2g, entsprechen 42 mmol PVAm) hinzugegeben und über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Nach Reaktionsende wurde die Reaktionslösung in einen Dialyseschlauch (ZelluTrans, MWCO = 3.500) überführt. Es wurde mind. 36 h, unter mehrmaligem Wassertausch, dialysiert um nicht abreagierte Substanzen zu entfernen. Der Dialyseschlauchinhalt wird am Rotationsverdampfer eingeengt und anschließend im Kolben an den Gefriertrockner gehangen um das Polymer vollständig zu trocknen.

Verwendung von Glutardialdehyd (GDA) als Anker zwischen PVAm und Betain

Variante1

Zu einer GDA-Lösung (25 Gew. % in Wasser, 3.1 mL, 7.7 mmol) wurden eine Lösung von Betain SB3 oder CB2 (7.7 mmol) in Wasser (20 mL) gegeben. Es wurde 30 min bei RT gerührt und anschließend Lupamin® 9095 (1g, entsprechen 21 mmol) unter Rühren hinzugegeben.

Bemerkung:

Nach Zugabe von Lupamin® 9095 entsteht direkt ein festes nicht mehr rührbares Gel. Die Reaktion wurde abgebrochen.

Variante2

Das Betain (SB3 oder CB2; 7.7 mmol) wurde in Wasser (20 mL) gelöst und anschließend Lupamin® 9095 (1g, entsprechen 21 mmol) hinzugeben. Unter Rühren wurden dann langsam eine GDA-Lösung (25 Gew.% in Wasser, 3.1 mL, 7.7 mmol) zugetropft.

Bemerkung:

Beim Zutropfen der GDA Lösung entsteht direkt ein festes nicht mehr rührbares Gel. Die Reaktion wurde abgebrochen.

Literaturverzeichnis

[1] T. L. Vigo, „Protection of Textiles from Biological Attack," *Handbook of Fiber Science and Technology: Vol. II, Chemical Processing of Fibers and Fabrics, Functional Finishes Part A,* p. 367, 1983.

[2] A. Böhringer, J. Rupp und A. Yonenaga, „Antimikrobielle Textilien," *ITB International Textile Bulletin,* Bd. 5, Nr. 12, 2000.

[3] C. Crouzet, C. Decker und J. Marchal, „Caractérisation de réactions primaires de dégradation oxydante au cours de l'autoxydation des poly(oxyéthylène)s à 25°C: Étude en solution aqueuse avec amorçage par radiolyse du solvant, 8. Étude cinétique en fonction du ph compris entre 1 et 13," *Die Makromolekulare Chemie,* pp. 145-157, 1976.

[4] M. C. Shen, L. Martinson, M. S. Wagner, D. G. Castner, B. D. Ratner und T. A. Horbett, „PEO-like plasma polymerized tetraglyme surface interactions with leukocytes and proteins: in vitro and in vivo studies," *Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition,* pp. 367-390, 2002.

[5] M. Oberthür, L. M. Koch, J. S. Gutmann, L. Homey, C. Neyer und A. Nickisch-Hartfiel, „Antimikrobielle Ausrüstung von Textilien unter Verwendung antiadhäsiver Polyamine," *Melliand Textilber.,* Nr. 98, pp. 38-40, 2017.

[6] A. Böhringer, J. Rupp und A. Yonenaga, Antimikrobielle Textilien, Bd. 5, ITB International Textile Bulletin, 2000, p. 12.

[7] H. Friebel und B. Lund, „Bakterien als Ursache allergischer Asthmaanfälle," *Zeitschr. f. Hygiene,* Nr. 142, p. 240–255, 1956.

[8] T. L. Vigo, Protection of Textiles from Biological Attack, in „Handbook of Fiber Science and Technology: Vol. II, Chemical Processing of Fibers and Fabrics, Functional Finishes Part A", NY: M. Lewin, S. B. Sello (Eds.), Marcel Dewkker, Inc.,, 1983, p. 367.

[9] H. Hahn, D. Falke, S. H. E. Kaufmann und U. Ullmann, Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Heidelberg: Springer, 2004.

[10] Umweltbundesamt, „"Fate-Studie Irgarol"," 2015.

[11] Bundesinstitut für Risikobewertung, „Stellungnahme Nr. 024/2010 des BfR: BfR rät von Nanosilber in Lebensmitteln und Produkten des täglichen Bedarfs ab," 2010.

[12] B. f. G. (Österreich), „Nanosilber in Kosmetika, Hygieneartikeln und Lebensmittelkontaktmaterialien".

[13] I. Banerjee, R. C. Pangule und R. S. Kane, „Antifouling coatings: recent developments in the design of surface that preventfouling by proteins, bacteria and marine organisms," *Adv. Mater.,* Nr. 23, pp. 690-718, 2011.

[14] Y. Gao und R. Cranston, „Recent advances in antimicrobial treatments of textiles," *Textile Research Journal,* Nr. 78, pp. 60-72, 2008.

[15] R. S. Blackburn, A. Harvey, J. D. Payne und S. J. Russell, „Sorption of poly(hexamethylenebiguanide) on cellulose: mechanism of binding and molecular recognition," Bd. Langmuir, Nr. 22, pp. 5636-5644, 2006.

[16] E. Wiesmann, Medizinische Mikrobiologie, 3. Auflage Hrsg., Stuttgart: G. Thieme Verlag, 1974.

[17] M. R. J. Salton und K. S. Kim, Medical Microbiology, 4. Edition Hrsg., S. B. (Ed.), Hrsg.

[18] P. J. Quinn, Mulecular Biology of Cell Membrane, London: MacMillan Press, 1976.

[19] N. S. Gelman, M. A. Lukoyanora und D. N. Ostrouskii, Biomembranes, Bd. 6, 1975, p. 35.

[20] Georg Thieme Verlag, Römpp Chemie Lexikon - Version 2.0, Stuttgart / New York, 1999.

[21] T. J. Franklin und G. A. Snow, Biochemistry of Antimicrobial Action, Antiseptics, Antibiotics, and the Cell Membrane, London: Chapman & Hall, 1981, p. 58.

[22] T. Ikeda und S. Tazuke, „Biologically active polycations: Antimicrobial activities of Poly[trialkyl(vinylbenzyl)ammonium chloride]-type polycations," *Makromol. Chem. Rapid Commun.,* Nr. 4, pp. 459-461, 1983.

[23] T. Ikeda, H. Hirayama, K. Suzuki, H. Yamaguchi und S. Tazuke, „Biologically active polycations, 6*. Polymeric pyridinium salts with well-defined main chain structure," *Makromol. Chem.,* Bd. 187, p. 333, 1986.

[24] N. Kawabata und M. Nishiguchi, „Antibacterial activity of soluble pyridinium-type polymers," *Appl. Environ. Microbio.,* Nr. 54, pp. 2532-2535, 1988.

[25] A. Kanazawa, T. Ikeda und T. Endo, „Novel polycationic biocides: Synthesis and antibacterial activity of polymeric phosphonium salts," *J. Polm. Sci., Part A: Polym. Chem.,* Nr. 31, pp. 335-343, 1993.

[26] A. Kanazawa, T. Ikeda und T. Endo, „Polymeric phosphonium salts as a novel class of cationic biocides. V. Synthesis and antibacterial activity of polyesters releasing phosphonium biocides," *J. Polm. Sci., Part A: Polym. Chem.,* Bd. 31, Nr. 12, pp. 3003-3011, 1993.

[27] A. Kanazawa, T. Ikeda und T. Endo, „Polymeric phosphonium salts as a novel class of cationic biocides. VII. Synthesis and antibacterial activity of polymeric phosphonium salts and their model compounds containing long alkyl chains," *J. Appl. Polym. Sci.,* Nr. 53, pp. 1237-1244, 1994.

[28] T. Ikeda, H. Yamaguchi und S. Tazuke, „Self-Sterilizing Materials. 1. Controlled Release of Biguanide Biocides from Polymeric Materials," *J. Bioact. Compat. Polym.,* Bd. 1, Nr. 2, p. 162, 1986.

[29] A. Kanazawa, T. Ikeda und T. Endo, „Antibacterial activity of polymeric sulfonium salts," *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.,* Bd. 31, Nr. 11, pp. 2873-2876, 1993.

[30] T. Tashiro, „Antibacterial and Bacterium Adsorbing Macromolecules," *Macromol. Mater. Eng.,* Bd. 286, pp. 63-87, 2001.

[31] T. Ikeda, S. Tazuke und Y. Suzuki, „Biologically active polycations, 4.* Synthesis and antimicrobial activity of poly(trialkylvinylbenzylammonium chloride)s," *Makromol. Chem.,* Bd. 185, Nr. 5, pp. 869-876, 1984.

[32] G. Li, J. Shen und Y. Zhu, „Study of pyridinium-type functional polymers. II. Antibacterial activity of soluble pyridinium-type polymers," *J. Appl. Polym. Sci.,* Bd. 67, Nr. 10, pp. 1761-1768, 1996.

[33] A. v. Harpe, H. Petersen, Y. Li und T. Kissel, „Characterization of commercially available and synthesized polyethylenimines for gene delivery," *Journal of Controlled Release,* Bd. 69, pp. 309-322, 2000.

[34] BASF SE, „https://worldaccount.basf.com/wa/ EU~de_DE/Catalog/Chemicals/pi/BASF/Brand/lupasol/polyethylenimine/ polymers_pg," [Online]. [Zugriff am 06 04 2018].

[35] B. Brissault, A. Kichler, C. Guis, C. Leborgne, O. Danos und H. Cheradame, „Synthesis of linear polyethylenimine derivatives for DNA transfection," *Bioconjug. Chem.,* Bd. 14, Nr. 3, p. 581, 2003.

[36] M. Thomas, J. J. Lu, Q. Ge, C. Zhang und J. C. u. A. M. Klibanov, „Full deacylation of polyethylenimine dramatically boosts its gene delivery efficiency and specificity to mouse lung," *Proceedings of the National Academy of the United States of America,* Bd. 106, Nr. 16, pp. 5679-5684, 2005.

[37] D. S. Zhuk, P. A. Gembitskii und V. A. Kargin, „Advances in the chemistry of polyethyleneimine (polyaziridine)," *Russian Chem. Reviews,* Bd. 34, Nr. 7, pp. 515-527, 1965.

[38] L. Tuchbreiter, „DIssertation," Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg, 2006.

[39] G. M. Lukovin, V. S. Pshezhetsky und G. A. Murtazaeva, „NMR 13C study of the structure of polyethyleneimine," *European Polymer Journal,* Bd. 9, Nr. 6, pp. 559-565, 1973.

[40] D. Hölter, A. Burgath und H. Frey, „Degree of branching in hyperbranched polymers. 2. Enhancement of the db: Scope and limitations," *Acta Polymerica,* Nr. 48, pp. 298-309, 1997.

[41] C. R. Dick und G. E. Ham, „Characterization of polyethylenimine," *Journal of Macromolecular Science-Chemistry,* pp. 1301-1314, 1970.

[42] J. Zomlefer, K. Hawkins und G. Jones, „Attempted Preparation of Polyvinylamine," *J. Org. Chem.,* p. 500, 1944.

[43] K. Yamamoto, Y. Imamura, E. Nagatomo, T. Serizawa, Y. Muraoka und M. Akashi, „Synthesis and functionalities of poly(N-vinylalkylamide). XIV. Polyvinylamine produced by hydrolysis of poly(N-vinylformamide) and its functionalization," *Journal of Applied Polymer Science,* Nr. 89, pp. 1277-1283, 2003.

[44] BASF SE, „Polyvinylamin - Eine BASF-Inovation mit Zukunft," 2004.

[45] E. Parzich, „Polyvinylamin - eine vielseitige Produktklasse mit Zukunft," Nr. 2, pp. 133-135, 2005.

[46] W. Auhorn, „Spezialchemikalien für Spezialpapiere - Chemikalien zur Erzielung multifunktioneller Eigenschaften," *Wochenblatt für Papierfabrikation,* Nr. 8, pp. 505-510, 1999.

[47] M. Rübenacker, R. Lorz, W. Auhorn und A. Esser, „Physikochemische Mechanismen bei der Störstoffbehandlung - Möglichkeiten und Grenzen der messtechnischen Erfassung," *Das Papier - Science and Technology,* Bd. 1, pp. 39-45, 2002.

[48] D. Thölmann, R. Kossmann und F. Sosna, „SAM-Polymers - ein polymerbiozides Additiv (Polymers with antimicrobial properties)," *Europ. Coating J.,* pp. 105-107, 2003.

[49] Europäisches Parlament, Gesetz zur Umsetzung der Richtlinie 98/8/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Februar 1998 über das Inverkehrbringen von Biozid-Produkten (Biozidgesetz) vom 20.06.2002, BGBL. Teil I, Nr. 40, 2002, S. 2076.

[50] Europäisches Parlament, Verordnung zur Umsetzung der Richtlinie 98/8/EG des Europäischen Parlaments und des Rates von 16. Februar 1998 über das Inverkehrbringen von Biozid-Produkten und zur Änderung chemikalienrechtlicher Verordnungen von 04.07.2002, BGBL Teil I, Nr. 45, 2002, S. 2514.

[51] A. Kanazawa, T. Ikeda und T. Endo, „Polymeric phosphonium salts as a novel class of cationic biocides. III. Immobilization of phosphonium salts by surface photografting and antibacterial activity of the surface-treated polymer films," Bd. 31, Nr. 6, pp. 1467-1472, 1993.

[52] H. Mucha, D. Höfer, S. Aßfalg und M. Swerev, „Antimikrobielle Ausrüstungen und Modifikationen," *Melliand Textilberichte,* Nr. 83, pp. 238-243, 2002.

[53] C. H. Kim, S. Y. Kim und K. S. Choi, „Synthesis and Antibacterial Activity of Water-soluble Chitin Derivatives," *Polym. Adv. Tech.,* Nr. 8, pp. 319-325, 1997.

[54] W. H. Daly und M. A. Manuszak-Guerrini, „Biocidal Chitosan Derivates". Patent US 6306835, 2001.

[55] C. Czeslik, „Factors ruling protein adsorption," *Zeitschrift Fur Physikalische Chemie - International Journal of Research in Physical Chemistry & Chemical Physics,* Bd. 7, Nr. 218, pp. 771-801, 2004.

[56] P. C. Hiemenz und R. Rajagopalan, Principles of colloid and surface chemistry, 3 Hrsg., New York, 1997.

[57] N. A. M. Besseling, „Theory of Hydration Forces between Surfaces," Bd. 13, Nr. 7, pp. 2113-2122, 1997.

[58] S. Herrwerth, W. Eck, S. Reinhardt und M. Grunze, „Factors that determine the proteinresistance of oligoether self-assembled monolayers - Internal hydrophilicity, terminal hydrophilicity, and lateral packing density," *Journal of the American Chemical Society,* Bd. 125, Nr. 31, pp. 9359-9366, 2003.

[59] J. J. Valle-Delgado, J. A. Molina-Bolívar, F. Galisteo-González, M. J. Gálvez-Ruiz, A. Feiler und M. W. Rutland, „Existence of Hydration Forces in the Interaction between Apoferritin Molecules Adsorbed on Silica Surfaces," *Langmuir,* Bd. 21, Nr. 21, pp. 9544-9554, 2005.

[60] P. Huetz, V. Ball, J.-C. Voegel und P. Schaaf, „Exchange Kinetics for a Heterogeneous Protein System on a Solid Surface," *Langmuir,* Bd. 11, Nr. 8, pp. 3145-3152, 1995.

[61] C. Calonder, Y. Tie und P. R. v. Tassel, „History dependence of protein adsorption kinetics," *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.,* Bd. 98, Nr. 19, pp. 10664-10669, 2001.

[62] C. M. Magin, S. P. Cooper und A. B. Brennan, „Non-toxic antifouling strategies," *Materials Today,* pp. 36-44, 2010.

[63] R. d. Nys, J. Günther und M. J. Uriz, „Natural Control of Fouling in Biofouling," *Biofouling,* pp. 109-120, 2010.

[64] A. J. Scardino und R. d. Nys, „Mini review: Biomimetic models and bioinspired surfaces for fouling control," *Biofouling,* pp. 73-86, 2011.

[65] M. Salta, J. A. Wharton, P. Stoodley, S. P. Dennington, L. R. Goodes, S. Werwinski, U. Mart, R. J. K. Wood und K. R. Stokes, „Designing biomimetic antifouling surfaces," *Philosophical Transactions of the Royal Society a-Mathematical Physical and Engineering Sciences,* pp. 4729-4754, 2010.

[66] K. L. Prime und G. M. Whitesides, „Adsorption of proteins onto surfaces containing end-attached oligo(ethylene oxide) - a model system using self-assembled monolayers," *Journal of the American Chemical Society,* pp. 10714-10721, 1993.

[67] R. G. Chapman, E. Ostuni, S. Takayama, R. E. Holmlin, L. Yan und G. M. Whitesides, „Surveying for surfaces that resist the adsorption of proteins," *Journal of the American Chemical Society,* pp. 8303-8304, 2000.

[68] E. Ostuni, R. G. Chapman, M. N. Liang, G. Meluleni, G. Pier, D. E. Ingber und G. M. Whitesides, „Self-assembled monolayers that resist the adsorption of proteins and the adhesion of bacterial and mammalian cells," *Langmuir,* pp. 6336-6343, 2001.

[69] E. Ostuni, R. G. Chapman, R. E. Holmlin, S. Takayama und G. M. Whitesides, „A survey of structure-property relationships of surfaces that resist the adsorption of protein," *Langmuir,* pp. 5605-5620, 2001.

[70] S. Krishnan, R. Ayothi, A. Hexemer, J. A. Finlay, K. E. Sohn, R. Perry, C. K. Ober, E. J. Kramer, M. E. Callow, J. A. Callow und D. A. Fischer, „Anti-biofouling properties of comblike block copolymers with amphiphilic side chains," *Langmuir,* pp. 5075-5086, 2006.

[71] C. J. Weinman, J. A. Finlay, D. Park, M. Y. Paik, S. Krishnan, H. S. Sundaram, M. Dimitriou, K. E. Sohn, M. E. Callow, J. A. Callow, D. L. Handlin, C. L. Willis, E. J. Kramer und C. K. Ober, „ABC Triblock Surface Active Block Copolymer with Grafted Ethoxylated Fluoroalkyl Amphiphilic Side Chains for Marine Antifouling/Fouling-Release Applications," *Langmuir,* pp. 12266-12274, 2009.

[72] Z. Zhou, D. R. Calabrese, W. Taylor, J. A. Finlay, M. E. Callow, J. A. Callow, D. Fischer, E. J. Kramer und C. K. Ober, „Amphiphilic triblock copolymers with PEGylated hydrocarbon structures as environmentally friendly marine antifouling and fouling-release coatings," *Biofouling,* pp. 589-604, 2014.

[73] S. Krishnan, C. J. Weinman und C. K. Ober, „Advances in polymers for anti-biofouling surfaces," *Journal of Materials Chemistry,* pp. 3405-3413, 2008.

[74] C. S. Gudipati, J. A. Finlay, J. A. Callow, M. E. Callow und K. L. Wooley, „The antifouling and fouling-release perfomance of hyperbranched fluoropolymer (HBFP)-poly(ethylene glycol) (PEG) composite coatings evaluated by adsorption

of biomacromolecules and the green fouling alga Ulva," *Langmuir,* pp. 3044-3053, 2005.

[75] S. Krishnan, R. Ayothi, A. Hexemer, J. A. Finlay, K. E. Sohn, R. Perry, C. K. Ober, E. J. Kramer, M. E. Callow, J. A. Callow und D. A. Fischer, „Anti-biofouling properties of comblike block copolymers with amphiphilic side chains," *Langmuir,* pp. 5075-5086, 2006.

[76] S. Krishnan, N. Wang, C. K. Ober, J. A. Finlay, M. E. Callow, J. A. Callow, A. Hexemer, K. E. Sohn, E. J. Kramer und D. A. Fischer, „Fischer Comparison of the fouling release properties of hydrophobic fluorinated and hydrophilic PEGylated block copolymer surfaces: Attachment strength of the diatom Navicula and the green alga Ulva," *Biomacromolecules,* pp. 1449-1462, 2006.

[77] P. Harder, M. Grunze, R. Dahint, G. M. Whitesides und P. E. Laibinis, „Molecular conformation in oligo(ethylene glycol)-terminated self-assembled monolayers on gold and silver surfaces determines their ability to resist protein adsorption," *Journal of Physical Chemistry,* pp. 426-436, 1998.

[78] R. L. C. Wang, H. J. Kreuzer und M. Grunze, „Molecular Conformation and Solvation of Oligo(ethylene glycol)-Terminated Self-Assembled Monolayers and Their Resistance to Protein Adsorption," *The Journal of Physical Chemistry,* pp. 9767-9773, 1997.

[79] J. Zheng, L. Li, S. Chen und S. Jiang, „Molecular Simulation Study of Water Interactions with Oligo (Ethylene Glycol)-Terminated Alkanethiol Self-Assembled Monolayers," *Langmuir,* pp. 8931-8938, 2004.

[80] R. Latour, „Molecular simulation of protein-surface interactions: Benefits, problems, solutions, and future directions (Review)," *Biointerphases,* pp. FC2-FC12, 2008.

[81] A. Rosenhahn, S. Schilp, H. J. Kreuzer und M. Grunze, „The role of "inert'' surface chemistry in marine biofouling prevention," *Physical Chemistry Chemical Physics,* pp. 4275-4286, 2010.

[82] J. Zheng, L. Y. Li, H. K. Tsao, Y. J. Sheng, S. F. Chen und S. Y. Jiang, „Strong repulsive forces between protein and oligo (ethylene glycol) self-assembled monolayers: A molecular simulation study," *Biophysical Journal,* pp. 158-166, 2005.

[83] Y. He, Y. Chang, J. C. Hower, J. Zheng, S. F. Chen und S. Jiang, „Origin of repulsive force and structure/dynamics of interfacial water in OEG-protein interactions: a molecular simulation study," *Physical Chemistry Chemical Physics,* pp. 5539-5544, 2008.

[84] S. Schilp, A. Rosenhahn, M. E. Pettitt, J. Bowen, M. E. Callow, J. A. Callow und M. Grunze, „Physicochemical Properties of (Ethylene Glycol)-Containing Self-Assembled Monolayers Relevant for Protein and Algal Cell Resistance," *Langmuir,* pp. 10077-10082, 2009.

[85] L. K. Ista und G. P. López, „Interfacial Tension Analysis of Oligo(ethylene glycol)-Terminated Self-Assembled Monolayers and Their Resistance to Bacterial Attachment," *Langmuir,* pp. 12844-12850, 2012.

[86] S. Schilp, A. Kueller, A. Rosenhahn, M. Grunze, M. E. Pettitt, M. E. Callow und J. A. Callow, „Settlement and adhesion of algal cells to hexa (ethylene glycol)-

containing self-assembled monolayers with systematically changed wetting properties," *Biointerphases,* Nr. 2, pp. 143-150, 2007.

[87] T. Ederth, T. Ekblad, M. E. Pettitt, S. L. Conlan, C.-X. Du, M. E. Callow, J. A. Callow, R. Mutton, A. S. Clare, F. D'Souza, G. Donnelly, A. Bruin, P. R. Willemsen, X. J. Su, S. Wang, Q. Zhao, M. Hederos, P. Konradsson und B. Liedberg, „Resistance of Galactoside-Terminated Alkanethiol Self-Assembled Monolayers to Marine Fouling Organisms," *Acs Applied Materials & Interfaces,* Nr. 3, pp. 3890-3901, 2011.

[88] J. C. Hower, Y. He und S. Y. Jiang, „molecular simulation study of methylated and hydroxyl sugar-based self-assembled monolayers: Surface hydration and resistance to protein adsorption," *Journal of Chemical Physics,* p. 129, 2008.

[89] K. Ishihara, H. Nomura, T. Mihara, K. Kurita, Y. Iwasaki und N. Nakabayashi, „Why do phospholipid polymers reduce protein adsorption?," *Journal of Biomedical Materials Research,* Bd. 39, pp. 323-330, 1998.

[90] Y. He, J. Hower, S. Chen, M. T. Bernards, Y. Chang und S. Jiang, „Molecular Simulation Studies of Protein Interactions with Zwitterionic Phosphorylcholine Self-Assembled Monolayers in the Presence of Water," *Langmuir,* pp. 10358-10364, 2008.

[91] Q. Shao, Y. He, A. D. White und S. Jiang, „Difference in Hydration between Carboxybetaine and Sulfobetaine," *The Journal of Physical Chemistry B,* Bd. 114, pp. 16625-16631, 2010.

[92] T. Ekblad, O. Andersson, F. I. Tai, T. Ederth und B. Liedberg, „Lateral Control of Protein Adsorption on Charged Polymer Gradients," *Langmuir,* Bd. 24, pp. 10358-10364, 2009.

[93] R. E. Holmlin, X. X. Chen, R. G. Chapman, S. Takayama und G. M. Whitesides, „Zwitterionic SAMs that resist nonspecific adsorption of protein from aqueous buffer," *Langmuir,* Bd. 17, pp. 2841-2850, 2001.

[94] A. Rosenhahn, J. A. Finlay, M. E. Pettit, A. Ward, W. Wirges, R. Gerhard, M. E. Callow, M. Grunze und J. A. Callow, „Zeta potential of motile spores of the green alga Ulva linza and the influence of electrostatic interactions on spore settlement and adhesion strength," *Biointerphases,* Bd. 4, pp. 7-11, 2009.

[95] L. K. Ista, M. E. Callow, J. A. Finlay, S. E. Coleman, A. C. Nolasco, R. H. Simons, J. A. Callow und G. P. Lopez, „Effect of substratum surface chemistry and surface energy on attachment of marine bacteria and algal spores," *Applied and Environmental Microbiology,* Bd. 70, pp. 4151-4157, 2004.

[96] A. V. Bers und M. Wahl, „The influence of natural surface microtopographies on fouling," *Biofouling,* Bd. 20, pp. 43-51, 2004.

[97] T. Ederth, P. Nygren, M. E. Pettitt, M. Ostblom, C. X. Du, K. Broo, M. E. Callow, J. Callow und B. Liedberg, „Anomalous settlement behavior of Ulva linza zoospores on cationic oligopeptide surfaces," *Biofouling,* Bd. 24, pp. 303-312, 2008.

[98] L. Petrone, A. D. Fino, N. Aldred, P. Sukkaew, T. Ederth, A. S. Clare und B. Liedberg, „Effects of surface charge and Gibbs surface energy on the settlement behaviour of barnacle cyprids (Balanus amphitrite)," *Biofouling,* Nr. 27, pp. 1043-1055, 2011.

[99] A. J. Scardino, J. Guenther und R. d. Nys, „Attachment point theory revisited: the fouling response to a microtextured matrix," *Biofouling,* Bd. 24, pp. 45-53, 2008.

[100] A. J. Scardino, E. Harvey und R. D. Nys, „Testing attachment point theory: diatom attachment on microtextured polyimide biomimics," *Biofouling,* Bd. 22, pp. 55-60, 2006.

[101] A. V. Bers und M. Wahl, „The influence of natural surface microtopographies on fouling," *Biofouling,* Bd. 20, pp. 43-51, 2004.

[102] J. F. Schumacher, M. L. Carman, T. G. Estes, A. W. Feinberg, L. H. Wilson, M. E. Callow, J. A. Callow, J. A. Finlay und A. B. Brennan, „Engineered antifouling microtopographies - effect of feature size, geometry, and roughness on settlement of zoospores of the green alga Ulva," *Biofouling,* Bd. 23, pp. 55-62, 2007.

[103] J. F. Schumacher, N. Aldred, M. E. Callow, J. A. Finlay, J. A. Callow, A. S. Clare und A. B. Brennan, „Species-specific engineered antifouling topographies: correlations between the settlement of algal zoospores and barnacle cyprids," *Biofouling,* Bd. 23, pp. 307-317, 2007.

[104] M. Nosonovsky und B. Bhushan, „Multiscale effects and capillary interactions in functional biomimetic surfaces for energy conversion and green engineering," *Philosophical Transactions of the Royal Society a-Mathematical Physical and Engineering Sciences,* Bd. 367, pp. 1511-1539, 2009.

[105] J. M. Harris, „Introduction to Biotechnical and Biomedical Applications of Poly(Ethylene Glycol) in Poly(Ethylene Glycol) Chemistry," pp. 1-14, 1992.

[106] T. Ekblad, G. Bergstroem, T. Ederth, S. L. Conlan, R. Mutton, A. S. Clare, S. Wang, Y. L. Liu, Q. Zhao, F. D'Souza, G. T. Donnelly, P. R. Willemsen, M. E. Pettitt, M. E. Callow, J. A. Callow und B. Liedberg, „Poly(ethylene glycol)-Containing Hydrogel Surfaces for Antifouling Applications in Marine and Freshwater Environments," *Biomacromolecules,* pp. 2775-2783, 2008.

[107] W. Senaratne, L. Andruzzi und C. K. Ober, „Self-Assembled Monolayers and Polymer Brushes in Biotechnology: Current Applications and Future Perspectives," *Biomacromolecules,* pp. 2427-2448, 2005.

[108] M. Morra, „Poly(ethylene oxide) coated Surfaces," *Water in Biomaterials Surface Science,* 2001.

[109] S. I. Jeon, J. H. Lee, J. D. Andrade und P. G. Degennes, „Protein surface interactions in the presence of polyethylene oxide 1. Simplified Theory," *Journal of Colloid and Interface Science,* pp. 149-158, 1991.

[110] N. T. Flynn, T. N. T. Tran, M. J. Cima und R. Langer, „Long-Term Stability of Self-Assembled Monolayers in Biological Media," *Langmuir,* Bd. 19, Nr. 26, pp. 10909-10915, 2003.

[111] L. Deng, M. Mrksich und G. M. Whitesides, „Fabrication of 2D-protein arrays using biotinylated thiols: results from fluorescence microscopy and atomic force microscopy," *Journal of the American Chemical Society,* Bd. 118, Nr. 21, pp. 5136-5137, 1996.

[112] R. S. Kane, P. Deschatelets und G. M. Whitesides, „Kosmotropes form the basis of protein-resistant surfaces," *Langmuir,* Bd. 19, Nr. 6, pp. 2388-2391, 2003.

[113] R. E. Holmlin, X. X. Chen, R. G. Chapman, S. Takayama und G. M. Whitesides, „Zwitterionic SAMs that resist nonspecific adsorption of protein from aqueous buffer," *Langmuir,* Bd. 17, Nr. 9, pp. 2841-2850, 2001.

[114] J. B. Schlenoff, „Zwitteration: Coating Surfaces with Zwitterionic Functionality to Reduce Nonspecific Adsorption," *Langmuir,* pp. 9625-9636, 2014.

[115] J. A. Hayward und D. Chapman, „Biomembrane surfaces as models for polymer design: the potential for haemocompatibility," *Biomaterials,* pp. 135-142, 1984.

[116] H. Chen, L. Yuan, W. Song, Z. K. Wu und D. Li, „Biocompatible polymer materials: Role of protein-surface interactions," *Progress in Polymer Science,* pp. 1059-1087, 2008.

[117] W. J. Yang, K. G. Neoh, E. T. Kang, S. L. M. Teo und D. Rittschof, „Polymer brush coatings for combating marine biofouling," *Progress in Polymer Science,* pp. 1017-1042, 2014.

[118] Z. Zhang, T. Chao, S. F. Chen und S. Y. Jiang, „Superlow fouling sulfobetaine and carboxybetaine polymers on glass slides," *Langmuir,* pp. 10072-10077, 2006.

[119] J. Ladd, Z. Zhang, S. Chen, J. C. Hower und S. Jiang, „Zwitterionic Polymers Exhibiting High Resistance to Nonspecific Protein Adsorption from Human Serum and Plasma," *Biomacromolecules,* pp. 1357-1361, 2008.

[120] G. Cheng, G. Z. Li, H. Xue, S. F. Chen, J. D. Bryers und S. Y. Jiang, „Zwitterionic carboxybetaine polymer surfaces and their resistance to long-term biofilm formation," *Biomaterials,* pp. 5234-5240, 2009.

[121] L. Zhang, Z. Cao, T. Bai, L. Carr, J.-R. Ella-Menye, C. Irvin, B. D. Ratner und S. Jiang, „Zwitterionic hydrogels implanted in mice resist the foreign-body reaction," *Nat. Biotech.,* pp. 553-556, 2013.

[122] S. Y. Jiang und Z. Cao, „Ultralow-Fouling, Functionalizable, and Hydrolyzable Zwitterionic Materials and Their Derivatives for Biological Applications," *Adv. Mat.,* pp. 1-13, 2009.

[123] Z. Zhang, J. A. Finlay, L. Wang, Y. Gao, J. A. Callow, M. E. Callow und S. Jiang, „Polysulfobetaine-Grafted Surfaces as Environmentally Benign Ultralow Fouling Marine Coatings," *Langmuir,* pp. 13516-13521, 2009.

[124] Y. He, J. Hower, S. Chen, M. T. Bernards, Y. Chang und S. Jiang, „Molecular Simulation Studies of Protein Interactions with Zwitterionic Phosphorylcholine Self-Assembled Monolayers in the Presence of Water," *Langmuir,* pp. 10358-10364, 2008.

[125] S. Chen, J. Zheng, L. Li und S. Jiang, „Strong Resistance of Phosphorylcholine Self-Assembled Monolayers to Protein Adsorption: Insights into Nonfouling Properties of Zwitterionic Materials," *Journal of the American Chemical Society,* pp. 14473-14478, 2005.

[126] H. Kitano, T. Mori, Y. Takeuchi, S. Tada, M. Gemmei-Ide, Y. Yokoyama und M. Tanaka, „Structure of Water Incorporated in Sulfobetaine Polymer Films as Studied by ATR-FTIR," *Macromolecular Bioscience,* pp. 314-321, 2005.

[127] S. F. Chen, L. Y. Li, C. Zhao und J. Zheng, „Surface hydration: Principles and applications toward low-fouling/nonfouling biomaterials," *Polymer,* pp. 5283-5293, 2010.

[128] W. Rabel, „Einige Aspekte der Benetzungstheorie und ihre Anwendung auf die Untersuchung und Veränderung der Oberflächeneigenschaften von Polymeren," *Farbe und Lack,* Bd. 10, pp. 997-1005, 1971.

[129] A. Venault, H.-S. Yang, Y.-C. Chiang, B.-S. Lee und R.-C. Ruaan, „Bacterial Resistance Control on Mineral Surfaces of Hydroxyapatite," *ACS Appl. Mater. Interfaces,* Bd. 5, pp. 3201-3210, 2014.

[130] S. Noel, B. Liberelle, L. Robitaille und G. D. Crescenzo, „Quantification of Primary Amine Groups Available for Subsequent Biofunctionalization of Polymer Surfaces," *Bioconjugate Chem.,* Nr. 8, pp. 1690-1699, 2011.

[131] R. Pelton, „Polyvinylamine: A Tool for Engineering Interfaces," *Langmuir,* Bd. 51, pp. 15373-15382, 2014.

[132] L. Sarda und P. Desnuelle, „Actions of Pancreatic Lipase on Esters in Emulsions," *Biochimica et Biophysica Acta,* Bd. 30, pp. 513-521, 1958.

[133] P. Desnuelle, L. Sarda und G. Ailhaud, „Inhibnition de la lipase pancréatique par le diéthyl-p-nitrophényl phosphate en emulsion," *Biochimica Et Biophysica Acta,* Bd. 37, p. 570, 1960.

[134] B. Franken, „Untersuchungen zum Inaktivierungsmechanismus von mikrobiellen Lipasen in wasserfreien Transesterifizierungen," *Dissertation, Heinrich-Heine-Universität,* 2008.

[135] M. P. Sauvant, D. Pepin und E. Piccinni, „Tetrahymena pyriformis: A tool for toxicological studies. A review," *Chemosphere,* Bd. 38, pp. 1631-1669, 1999.

[136] T. W. Schultz, „Structure-Toxicity Relationships for Benzenes Evaluated with Tetrahymena pyriformis," *Chem. Res. Toxicol.,* Bd. 12, pp. 1262-1267, 1999.

[137] T. W. Schultz, M. T. D. Cronin, T. I. Netzeva und A. O. Aptula, „Structure-Toxicity Relationships for Aliphatic Chemicals Evaluated with Tetrahymena pyriformis," *Chem. Res. Toxicol.,* Bd. 15, p. 1602–1609, 2002.

[138] J. Lang und L. Köhidai, „Effects of the aquatic contaminant human pharmaceuticals and their mixtures on the proliferation and migratory responses of the bioindicator freshwater ciliate Tetrahymena," *Chemosphere,* Bd. 89, p. 592–601, 2012.

[139] T. Zhang, X. Li, P. Liu, C. Zhang und H. Luo, „Joint toxicity of heavy metals and chlorobenzenes to pyriformis Tetrahymena," *Chemosphere,* Bd. 104, pp. 177-183, 2014.

[140] K. Beermann, H.-J. Buschmann und E. Schollmeyer, „A calorimetric method for the rapid evaluation of toxic substances using Tetrahymena pyriformis," *Thermochim. Acta,* Bd. 337, pp. 65-69, 1999.

[141] T. Mayer-Gall, T. Textor und J. S. Gutmann, „Entwicklung von Ausrüstungen zur Verbesserung der Scheuer bzw. Abrasionsbeständigkeit von textilen Flächengebilden," 2017.

[142] G. Li, J. Shen und Y. Zhu, „Study of pyridinium-type functional polymers. II. Antibacterial activity of soluble pyridinium-type polymers," *J. Appl. Polym. Sci,* Bd. 67, Nr. 10, pp. 1761-1768, 1998.

[143] R. Pelton und J. Hong, „The surface tension of aqueous polyvinylamine and copolymers with N-Vinylformamide," *Coll. Polym. Sci.,* Nr. 280, pp. 203-205, 2002.

[144] S. Zhang, J. Yang, Y. Hu und Z. Chen, „Some Properties of Aqueous Solutions of Poly(vinylaminechloride)," *J. Polym. Sci.,* Nr. 89, pp. 3889-3893, 2003.

Abbildungsverezichnis

Abbildung 1: Ausrüstung von PET und BW. Erwartete Effekte in Abhängigkeit vom Substitutionsgrad DS des Polyamin-Derivats [5] 2

Abbildung 2: Vergleich zwischen einer bioziden und antiadhäsiven Oberfläche..... 4

Abbildung 3: Schematische Darstellung einer Bakterienzelle [17] 7

Abbildung 4: Strukturformel der Phospholipide (1) Phosphatidylethanolamine (PE); (2) saures Phosphatidylglycerin (PG) 8

Abbildung 5; Schematische Darstellung einer Cytoplasmamembran [20]..... 9

Abbildung 6: Synthese lineares PEIm 13

Abbildung 7: Säurekatalysierte kationische Ringöffnungspolymerisation von Aziridin 13

Abbildung 8: Schematische Darstellung des Aufbaus von hyperverzweigtem PEI..... 14

Abbildung 9: Strukturformel von Polyvinylamin (PVAm) 15

Abbildung 10: Großtechnische Synthese von PVAm aus Vinylformamid mit anschließender Hydrolyse 15

Abbildung 11: Polyvinylamin als kationischer Polyelektrolyt..... 16

Abbildung 12: Angriffspunkt-Theorie für Oberflächen mit zunehmender Strukturgröße A. Organismus auf einer glatten Oberfläche B. + C. Strukturen, die kleiner als der Organismus sind. D. Organismus in einer Struktur idealer Größe mit mehreren Angriffspunkten. Abbildung angelehnt an Scardino et al., Biofouling 2006 [100]. . 26

Abbildung 13: Grundbaustein von PEGs..... 26

Abbildung 14: Strukturen von Phosphorcholinen (A), Carboxybetainen (B) und Sulfobetainen (C) 28

Abbildung 15: Darstellung der Berechnung des DS bei PVAm..... 30

Abbildung 16. ^{1}H-NMR-Spektren von PVAm (blau), dem eingesetzten SB1 (rot) und dem Produkt PVAm-g-SB1 (grün). Die ^{1}H-NMR-Spektren wurden in D_2O aufgenommen. 31

Abbildung 17: Darstellung der Berechnung des DS bei PEIm..... 32

Abbildung 18. ^{1}H-NMR-Spektren von PEIm (blau), dem eingesetzten SB1 (rot) und dem Produkt PEIm-g-SB1 (grün). Die ^{1}H-NMR-Spektren wurden in D_2O aufgenommen. 33

Abbildung 19: Schematische Darstellung der Oberflächenreaktion von Lupamin®-modifizierten Textilien mit reaktiven Monomeren. 36

Abbildung 20: Reaktion von Methylenblau mit endständigen Carboxylgruppen des PET 38

Abbildung 21. Verwendete Kupplungsreagenzien zur Modifizierung der Polyamine 49

Abbildung 22 Unbehandeltes und extrahiertes PET ausgerüstet bei pH=5 und pH=11 53

Abbildung 23; Modelvorstellung zum Verhalten von Polykationen in wässrigen Lösungen unter Zusatz von Säure bzw. Lauge..... 55

Abbildung 24. ATR-IR Spektren von dem PET-Rohgewebe (blau) und PET, welches mit PEIm ausgerüstet wurde (rot)..... 55

Abbildung 25. Verfärbungen von PET durch die Ausrüstung (150°C, 8 Minuten) mit Polyethyleniminen: a) PET unbehandelt, b) mit PEI ausgerüstet (1 Gew.%ige Lösung), c) mit PEI-SB1 (1 Gew.%ige Lösung) und d) PEI-SB1 (1 Gew.%ige Lösung, gewaschen). 57

Abbildung 26: Rückstand von Lupamin® 9095 nach dem einengen (links) und nach der Dialyse (rechts) 59

Abbildung 27. Vergleich der ^{1}H-NMR-Spektren (D_2O, 300 MHz, aufgenommen bei pH=7) von Polyvinylamin (Lupamin® 9095): a) Lupamin® 9095 technisch, b) Lupamin® 9095 dialysiert. 61

Abbildung 28. Erreichte Massenauflagen bei unterschiedlichen PVAm-Konzentrationen. Mittelwert aus einer 6-fach Bestimmung 65

Abbildung 29. FT-IR Spektren von dem PET-Rohgewebe (blau) und PET, welches mit PVAm (rot) und PVAm-g-SB1 mit DS = 60 % ausgerüstet wurde (rot) 66

Abbildung 30: Vergleich der ^{1}H-NMR Spektren; Synthese mit Lupamin® 9095 (blau), Synthese mit PVAm*HCl (rot) 68

Abbildung 31. BW und PET ausgerüstet mit Lupamin® 1595 und 9095 bei pH = 9; anschließend TNBS-Färbung 75

Abbildung 32. Oben: unbehandelte BW und ausgerüstete BW (mit PVAm-g-SB2) angefärbt mit TNBS; Unten: PET unbehandelt und ausgerüstet (mit PVAm-g-SB2), angefärbt mit TNBS (PVAm = Lupamin® 9095, bei pH = 9 ausgerüstet). 76

Abbildung 33. Massenauflage von beschichteter BW und PET mit PVAm-g-SB1. Mittelwert aus einer 4-fach Bestimmung 78

Abbildung 34. Massenauflage von beschichteter BW und PET mit PVAm-SB2. Mittelwert aus einer 4-fach Bestimmung 79

Abbildung 35. Ergebnisse der ICP-Messungen der BW- und PET-Proben, welche mit PVAm-g-SB1 ausgerüstet wurden. Mittelwert aus einer 3-fach Bestimmung 80

Abbildung 36. Ergebnisse der ICP Messungen der BW- und PET-Proben, welche mit PVAm-SB2 ausgerüstet wurden. Mittelwert aus einer 3-fach Bestimmung. 81

Abbildung 37. Schwefelgehalt von PVAm-SB2_60@BW und PVAm-SB2_60@PET bei unterschiedlichen Fixierzeiten. 83

Abbildung 38: ICP Ergebnisse der beschichteten PET- und BW-Proben mit PVAm(1595)- g-SB2 bei pH 5 und pH 9 85

Abbildung 39: Methylenblaufärbung der PET Rohgewebe a) PET extrahiert b) PET Korona-behandelt c) PET UV-behandelt 86

Abbildung 40: Methylenblaufärbung der ausgerüsteten PET Proben; a) Lupamin 9095 b) Lupamin 1595 c) - f): PVAm-g-SB2 mit DS=20 (c) DS=40 (d) DS=60 (e) DS=80 (f) 88

Abbildung 41: PET (oben) und BW (unten); Rohgewebe (links); ausgerüstet (mitte); gewaschen (rechts) 88

Abbildung 42: Unbeschichtete (oben) und beschichtete (unten) BW unter dem Digital Mikroskop bei zwei verschiedenen Vergrößerungen 90

Abbildung 43: PET ausgerüstet mit Lupamin 9095 91

Abbildung 44: PET Vorbehandlung mit Marlipal (oben), Korona (mitte) und UV-Bestrahlung (unten) 92

Abbildung 45: Plattendiffusiontest von verschiedenen PET und BW Proben. (1) Rohgewebe; (2) PVAm; (3) PVAm-g-SB2_20; (4) PVAm-g-SB2_40; (5) PVAm-g-SB2_60; (6) PVAm-g-SB2_80; (7) PVAm nicht fixiert....93

Abbildung 46. Probeninkubation in Lipaselösung....94

Abbildung 47: Kinetikkurven der freien Lipase mit FDA als Substrat....96

Abbildung 48: Konzentrationsreihe der freien Lipase....97

Abbildung 49: Kalibrationskurve BW Abbildung 50: Kalibrationskurve PET....97

Abbildung 51: Konformationsänderung der Lipase aus *Candida rugosa* nach Kontakt mit einer Substrat / Wasser-Grenzfläche [134]....98

Abbildung 52. Lipaseadhäsion von PET und BW ausgerüstet mit PVAm-PEGMA mit verschiedenen DS....99

Abbildung 53. Lipaseadhäsion von mit PVAm-g-SB2 ausgerüsteter BW und PET in Abhängigkeit vom Substitutionsgrad DS. 100

Abbildung 54: Absolutwerte der Fluoreszenzintensität für die Lipaseadhäsion von BW (blau) und PET (rot) 101

Abbildung 55. Lipaseadhäsion von mit PVAm-g-SB1 ausgerüsteter BW und PET in Abhängigkeit vom Substitutionsgrad DS. 102

Abbildung 56. Proteinadhäsion von BW-PVAm-SB2_60 und PET-PVAm-SB2_60, mit unterschiedlichen Fixierzeiten....103

Abbildung 57: Proteinadhäsion bei Verwendung von Lupamin 1595 und Ausrüstung bei pH=5 und pH=9 104

Abbildung 58. Antiadhäsive Wirkung von PVAm-SB2@ PET und BW gegen *S. aureus*. Getestet nach einer Methode der Klinik für Hautkrankheiten in Jena....105

Abbildung 59. Aufnahmen mit dem Fluoreszenzmikroskop von der bakteriellen Adhäsion von PVAm-PEGMA_60 auf BW und PET gegen *E.coli*....107

Abbildung 60. Aufnahmen mit dem Fluoreszenzmikroskop von der bakteriellen Adhäsion von PVAm-SB2@PET gegen *E.coli* 108

Abbildung 61: Aufnahmen mit dem Fluoreszenzmikroskop von der bakteriellen Adhäsion von PVAm-SB2@BW gegen *E.coli* 109

Abbildung 62: Bakterielle Adhäsion auf BW von *B. subtilis* (oben) und *E. coli* (unten)110

Abbildung 63: Bakterielle Adhäsion auf PET von B. subtilis (oben) und E. coli (unten) 111

Abbildung 64. Bakterielles Wachstum von *E. coli* und *S. aureus* auf PET ausgerüstet mit verschiedenen PVAm-SB2 Derivaten 112

Abbildung 65. Bakterielles Wachstum von von *E. coli* und *S. aureus* auf BW ausgerüstet mit verschiedenen PVAm-SB2 Derivaten 113

Abbildung 66. Erweiterte antimikrobielle Wirksamkeit von PVAm-SB2_20 und PVAm-SB2_80 @ PET gegenüber *K. pneumoniae* und einem Hefepilz (*C. albicans*)....115

Abbildung 67: Wärmeentwicklung der Ciliaten unter Einfluss von verschiedenen Polyvinylaminlösungen.....117

Abbildung 68. Enthalpieänderung der Ciliaten unter Einfluss von den modifizierten Polyvinylaminlösungen....118

Abbildung 69**.** Enthalpie-Zeit Kurven von *T. pyriformis* unter Zusatz von beschichteten BW-Proben. 119

Abbildung 70. ICP-Ergebnisse der Schwefelbestimmung von ungewaschenen (rot) und gewaschenen (1 Waschzyklus: grün; 5 Waschzyklen: blau) PET-Proben, die mit zuvor PVAm-g-SB2 ausgerüstet wurden. 121

Abbildung 71. ICP-Ergebnisse der Schwefelbestimmung von ungewaschenen (rot) und gewaschenen (1 Waschzyklus: grün; 5 Waschzyklen: blau) BW-Proben, die mit zuvor PVAm-g-SB2 ausgerüstet wurden 122

Abbildung 72: ICP-Ergebnisse der Schwefelbestimmung von ungewaschenen Referenzen (rot) und gewaschenen (1 Waschzyklus: grün; 5 Waschzyklen: blau) von BW- und PET-Proben, die zuvor mit PVAm-g-SB1 ausgerüstet wurden. 123

Abbildung 73. Auswirkung der einzelnen Tenside und des ECE-Waschmittels auf die Lipaseadhäsion der Rohgewebe. 124

Abbildung 74. Lipaseadhäsion der gewaschenen PET-Proben, ungewaschen (Referenz) und nach 5 Waschzyklen mit verschiedenen Tensiden. 125

Abbildung 75. Lipaseadhäsion der gewaschenen BW-Proben ungewaschen (Referenz) und nach 5 Waschzyklen 126

Abbildung 76: Vergleich der Fluoreszenzintensität beim Lipasetest nach 1 WZ und nach 5 WZ für PET und BW 127

Abbildung 77: Fluoreszenzintensitäten für gewaschene PET und BW Proben, welche mit PVAm-g-SB1 ausgerüstet wurden 128

Abbildung 78: BW (oben) und PET (unten) nach dem Abrasionstest 130

Abbildung 79: Fotographische und mikroskopische Aufnahmen (Vergrößerung: 100x und 300x) der gescheuerten PET-Proben; a) PET unbeschichtet, b) PET-PVAm-SB2_20, c) PET-PVAm-SB2_40, d) PET-PVAm-SB2_60, e) PET-PVAm-SB2_80 131

Abbildung 80. Vergleich von Gewebe und Gewirke. 139

Abbildung 81. Schematische Darstellung der Oberflächenreaktion von Lupamin® - modifizierten Textilien mit reaktiven Monomeren. 141

Abbildung 82. Verwendete Monomere für die Oberflächenreaktion und schematische Darstellung der resultierenden zwitterionischen Oberfläche 142

Abbildung 83. Proteinadhäsion von den Versuchen bei Thorey Gera Textilveredlung GmbH 143

Abbildung 84. Übersicht über die Ausrüstungsvarianten des Diensthemdes. 145

Abbildung 85. Proteinadhäsion der verschieden behandelten Probestücke 146

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Antimikrobielle Chemikalien [6] 6
Tabelle 2: Physikalische Eigenschaften von Lupamin® 9095 [44] 16
Tabelle 3: Toxikologische und ökotoxikologische Eigenschaften des technischen PVAm Lupamin 9095 [44] 17
Tabelle 4. Zusammenfassung der Synthesen der Sulfobetaine SB1–4. 46
Tabelle 5. Industriell genutzte Polyamine 48
Tabelle 6. Maximale Substitutionsgrade DS, die durch die Michael-Addition an PEIm erzielt werden konnten. 51
Tabelle 7. Übersicht der eingesetzten Molverhältnisse 52
Tabelle 8: Übersicht der Massenauflagen der Beschichtung von PET mit PEIm 54
Tabelle 9. Schwefelgehalt des ausgerüsteten Polyestergewebes ermittelt mittels ICP-OES und REM-EDX. 56
Tabelle 10. Übersicht über die ermittelten Feststoff- und Polymergehalte von Lupamin® 1595 und Lupamin® 9095 60
Tabelle 11: Übersicht über die Massenauflagen der ausgerüsteten Gewebe 63
Tabelle 12. Schwefelgehalt von Baumwoll- und Polyesterproben nach Ausrüstung mit PVAm-g-SB1 (DS = 60%) ermittelt mittels ICP-OES und REM-EDX. 67
Tabelle 13. Substitutionsgrad von PVAm nach Michael-Addition 71
Tabelle 14. Eingesetzte Molverhältnisse und resultierender Substitutionsgrad bei der Reaktion von PVAm mit SB1. 72
Tabelle 15. Übersicht der Massenauflagen Polymer und der Masse des eingelagerten Wassers 82
Tabelle 16: Carboxylgruppenbestimmung mit Methylenblau 87
Tabelle 17. Zusammensetzung des verwendeten ECE-Waschmittels nach ISO 105-C06:2010 120
Tabelle 18. Weißgrad (nach Berger) der Referenzen und der ausgerüsteten Proben. 129
Tabelle 19. Mikrobiologische Untersuchung an dem Polizeihemd 147
Tabelle 20. Übersicht der verwendeten Chemikalien 149
Tabelle 21: Übersicht der Geräte und Verbrauchsmaterialien 154

Schemataverzeichnis

Schema 1. Synthese der Sulfobetaine SB1–4. 45
Schema 2. Allgemeines Reaktionsschema von PEIm mit (Meth-)Acrylaten. 50
Schema 3. Allgemeines Reaktionsschema von PVAm mit (Meth-)Acrylaten. 70
Schema 4. Kupplung der Amino-Betaine SB3 mit PVAm unter Verwendung von Cyanurchlorid als Ankermolekül. 73
Schema 5. Reaktion von PVAm mit SB3 und GDA als Anker 74
Schema 6. Allgemeines Reaktionsschema des TNBS-Assays 75

Publikationsliste

Paper:

L. M. Timma, L. Lewald, F. Gier, L. Homey, C. Neyer, A. Nickisch-Hartfiel, J. S. Gutmann, M. Oberthür*, Nonfouling textiles with tunable antimicrobial activity based on a zwitterionic polyamine finish,* RSC Advances, (2019), 9, 9783-9791

M. Oberthür, L. M. Koch, J. S. Gutmann, L. Homey, C. Neyer, A. Nickisch-Hartfiel *Antimikrobielle Ausrüstung von Textilien unter Verwendung antiadhäsiver Polyamine*, Melliand Textilber. 98 (2017), 38-40.

M. Oberthür, L. M. Koch, J. S. Gutmann, L. Homey, C. Neyer, A. Nickisch-Hartfiel *Antimicrobial finishing of textiles with antiadhesive polyamines,* Melliand Int. (2017), Ausgabe 2, 101-103.

M. Oberthür, L.M. Koch, J.S. Gutmann, *Antimikrobielle Ausrüstung von Textilien unter Verwendung antiadhäsiver Polyamine*, DTNW-Mitteilung Nr. 103 (2016), ISSN 1430-1954.

Vorträge:

L. Koch, M. Oberthür, J. S. Gutmann. Synthesis of antiadhesive polyamines for an antimicrobial finishing of textiles. *European Polymer Federation Congress*, Dresden, Deutschland, **2015**.

L. Koch, M. Oberthür, J. S. Gutmann. Modification of polyamines for an antimicrobial and antiadhesive finishing of textiles. 6. *Junges Chemie Symposium Ruhr*, Essen, Deutschland, **2015**.

L. Koch, M. Oberthür, J. S. Gutmann Antimikrobielle und Antifouling Oberflächen auf Basis von Polyvinylamin und Sulfobetainen - auch als neue Möglichkeit für die Lebensmittelindustrie? *Arbeitstagung 2018 der Lebensmittelchemischen Gesellschaft, Fachgruppe der GDCh, Regionalverband NRW*, Essen, Deutschland, **2018**

Posterpräsentationen:

L. Koch, M. Oberthür, J. S. Gutmann. Antimicrobial finishing of textiles with antiadhesive polyamines. *Aachen Dresden International Textile Conference*, Dresden, Deutschland, **2014**.

L. Koch, M. Oberthür, J. S. Gutmann. Antimicrobial and antiadhesive finishing of textiles. *Aachen Dresden International Textile Conference*, Aachen, Deutschland, **2015**.

L. Koch, L. Homey, A. Nickisch-Hartfiel, J. S. Gutmann, M. Oberthür. A novel approach to achieve an antimicrobial and antiadhesive finishing of textiles. 18. JCF *Frühjahrssymposium* , Kiel, Deutschland, **2016**.

L. Koch, M. Oberthür, J. S. Gutmann Antimikrobielle und Antifouling Oberflächen auf Basis von Polyvinylamin und Sulfobetainen - auch als neue Möglichkeit für die Lebensmittelindustrie? *Arbeitstagung 2018 der Lebensmittelchemischen Gesellschaft, Fachgruppe der GDCh, Regionalverband NRW*, Essen, Deutschland, **2018**

L. Timma, P. Stafiej, A. Nickisch-Hartfiel, D. De Smet, M. Oberthür, G. Delaittre, J. Stefan Gutmann. Biocide-free textile odor management *Aachen Dresden Denkendorf International Textile Conference*, Aachen, Deutschland, **2018**

Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Weiterhin erkläre ich, dass von mir an keiner anderen Stelle ein Promotionsverfahren beantragt wurde.

Krefeld (Nordrhein-Westfalen), den 30.12.2019

_____

Lisa Timma