

## 3 Analytische Methoden

### 3.1 Spektroskopie

#### 3.1.1 Photonenkorrelations-Spektroskopie

Die Photonenkorrelations-Spektroskopie (PCS) ist ein dynamisches Laser-Streulichtverfahren, welches zur Bestimmung der mittleren Partikelgröße und der Partikelgrößenverteilung genutzt wird. Die Methode eignet sich zur Vermessung von Partikelgrößen im Bereich von 5 nm bis 5  $\mu\text{m}$  [150].

Die Partikel unterliegen in Lösung einer ungerichteten Bewegung, ausgelöst durch die Kollision mit Flüssigkeitsmolekülen des Dispersionsmittels. Treibende Kraft dieses Prozesses ist die *Brown'sche* Molekularbewegung, welche bei kleineren Partikeln zu einer höheren Diffusionsgeschwindigkeit führt. Beim Durchstrahlen der Probe mit einem Laserstrahl kommt es an den Partikeln zur Streuung des Lichtes. Aufgrund der Bewegung der Partikel ist die Streuung nicht konstant, sondern schwankt über die Zeit. Die im 90°-Winkel detektierten Schwankungen der Intensität des gestreuten Laserlichts sind umso stärker, je schneller sich die Partikel bewegen. Auf der Grundlage dieser Intensitätsschwankungen kann mit Hilfe einer Autokorrelationsfunktion die Diffusionskonstante bestimmt und mittels dieser auf die Partikelgröße geschlossen werden. Über die Intensitäten des gestreuten Lichtes kann die Korrelationsfunktion wie folgt berechnet werden:

$$g(\tau) = 1 + e^{-2DK^2\tau} \quad \text{Gl.3-1}$$

mit:  $g(\tau)$  Korrelationsfunktion;  $D$  Diffusionskonstante der Partikel;  $K$  Streuvektor des verwendeten Lichtes aus  $\lambda$  Wellenlänge und  $\theta$  Streuwinkel;  $\tau$  Relaxationszeit der streuenden Teilchen

Nach Ermittlung der Diffusionskonstanten kann mit Hilfe der *Stokes-Einstein*-Beziehung der mittlere Teilchendurchmesser bestimmt werden (Gl.3-2).

$$d = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad \text{Gl.3-2}$$

mit:  $d$  Teilchendurchmesser,  $k$  Boltzmannkonstante,  $T$  absolute Temperatur,  $\eta$  Viskosität des Lösungsmittels,  $D$  Diffusionskonstante der Partikel

Die Abweichung der Korrelationsfunktion von der Autokorrelationsfunktion wird in Form des Polydispersitätsindex (PI) angegeben. Dieser PI ist ein Maß für die Breite der Partikelgrößenverteilung und kann einen Wert zwischen 0 und 1 annehmen. Monodisperse Systeme haben aufgrund einer engen Verteilung einen PI nahe 0. Messergebnisse mit einem PI über 0,5 gelten dagegen als nicht auswertbar [151]. Weiterhin ist zu beachten, dass eine Veränderung der Diffusionsgeschwindigkeit durch Temperatur- und Viskositätsschwankungen zur Verfälschung der Messergebnisse führen kann. Die Partikel sollten von kugelförmiger Gestalt sein und während der Messung nicht sedimentieren oder flotieren, da auch diese Prozesse Einfluss auf die Diffusionsgeschwindigkeit bzw. Lichtstreuung haben. Sehr hoch konzentrierte Lösungen müssen angemessen verdünnt werden, um Mehrfachstreuungen zu vermeiden. Zu weitergehenden Informationen bezüglich Messtechnik und Dateninterpretation wird auf die Literatur [150] verwiesen.

Für die Messungen wurden ein Zetasizer 3000 Advanced und ein Zetamaster der Firma Malvern Instruments Ltd. (Worcestershire, England), bestehend aus optischer Einheit, Helium-Neon-Laser und Korrelator, verwendet (Software: PCS V1.41/ PCS V1.51 Rev.). Die Messungen wurden mit Proben in geeigneter Verdünnung durchgeführt, bei konstanter Temperatur von 25°C sowie einer definierten Viskosität der Lösung. Es erfolgte eine Kalibrierung des Messgerätes mit Standardlatexpartikeln unterschiedlicher Größe.

### **3.1.2 Laser-Doppler-Anemometrie und Zetapotential**

Laser-Doppler-Anemometrie (LDA) ist eine Methode zur Bestimmung der Wanderungsgeschwindigkeit von Partikeln im elektrischen Feld, welche sich in Abhängigkeit der Oberflächenladungen der Partikel ändert und mittels bestimmter Parameter in das Zetapotential konvertiert werden kann. Die als Zetapotential messbaren oberflächenassoziierten Ladungen kolloidaler Systeme können Informationen zur deren Stabilität geben oder zur Charakterisierung elektrostatischer Veränderungen und Modifikationen auf der Partikeloberfläche herangezogen werden.

Partikeloberflächen besitzen eine adsorptiv fixierte elektrische Doppelschicht (auch Sternschicht genannt), welche aus der inneren und äußeren Helmholtzschicht aufgebaut ist. Diese ist umgeben von einer beweglichen diffusen Schicht, welche die Ladungen der Sternschicht durch entsprechende Gegenionen kompensiert und dadurch Partikelneutralität zum umgebenden Medium herstellt. Wird im elektrischen Feld ein Teil der diffusen Schicht

durch Eigenbewegung der Teilchen oder Dipoleffekte abgeschert, so ergibt sich eine Potentialdifferenz, durch welche die Partikel in Richtung der entgegengesetzt geladenen Elektrode wandern. Dabei entsteht gemäß dem *Stokes'schen* Gesetz eine proportional zur Geschwindigkeit auftretende Reibungskraft, die ein weiteres Abscheren der diffusen Schicht verursacht.

$$F_R = 6\pi r \eta v \quad \text{Gl.3-3}$$

mit:  $F_R$  Reibungskraft,  $r$  Partikelradius,  $\eta$  Viskosität,  $v$  Geschwindigkeit

Liegt eine ausreichend hohe Feldstärke an, kann die diffuse Schicht fast vollständig bis zur Sternschicht abgeschert werden und die dabei auftretende konstante Wanderungsgeschwindigkeit der Teilchen mittels LDA bestimmt werden. Für die Messung wird der Laserstrahl in zwei intensitätsgleiche Strahlen geteilt, die mit Hilfe zweier Spiegel in der Messzelle gekreuzt werden. Das Hell-Dunkel-Interferenzmuster, welches sich im Kreuzpunkt bildet, wird nach Anlegen der Wechselspannung von den Teilchen durchwandert. Beim Auftreffen des Laserstrahls auf die Teilchen kommt es zur Reflexion, wobei seine Frequenz durch die Teilchenbewegung verändert wird. Der Betrag dieser Frequenzverschiebung ist abhängig von der Wanderungsgeschwindigkeit und wird als so genannte Doppler-Frequenz bezeichnet (Doppler-Effekt). Durch die Verwendung zweier Laserstrahlen nimmt ein Detektor die Überlagerung einer dopplerverschobenen Lichtfrequenz mit der ursprünglichen Sendefrequenz des Laserlichts wahr. Aus der Doppler-Frequenz, dem Streulichtwinkel und der Wellenlänge kann die Wanderungsgeschwindigkeit  $v$  der Teilchen abgeleitet werden.

$$f_d = \frac{2 \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)}{\lambda} v \quad \text{Gl.3-4}$$

mit:  $f_d$  Dopplerfrequenz,  $\theta$  Streulichtwinkel,  $\lambda$  Wellenlänge des Laserlichtes,  $v$  Wanderungsgeschwindigkeit der Teilchen

Aus dem Quotienten der Wanderungsgeschwindigkeit und der elektrischen Feldstärke ergibt sich die elektrophoretische Mobilität der Partikel, wodurch die Oberflächenladungen unabhängig von der Feldstärke beschrieben werden können [152]. Die Bestimmung des Zetapotentials erfolgt über die *Helmholtz-Smoluchowski* Beziehung:

$$\zeta \approx \frac{\eta v}{\epsilon E} \quad \text{Gl.3-5}$$

mit:  $\zeta$  Zetapotential,  $\eta$  Viskosität,  $v$  Wanderungsgeschwindigkeit der Teilchen,  $\epsilon$  Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels,  $E$  Elektrische Feldstärke

Zusammengefasst gibt das Zetapotential das messbare Potential an der Scherebene eines wandernden Teilchens an, wenn durch die Bewegung im elektrischen Feld der größte Teil der diffusen Schicht abgeschert wurde. Zu vertiefenden Theorien dieser Methode wird auf eine vollständige Abhandlung von R.H. Müller verwiesen [153].

Die Messungen ( $n=5$ ) wurden mit einem Zetasizer Advanced 3000 und einem Zetamaster der Firma Malvern Instruments Ltd. (Worcestershire, England) nach Verdünnen in elektrolytarmen Dispersionsmedium und unter konstantem pH-Wert durchgeführt (Software: PCS V1.41/ PCS V1.51 Rev.). Kontrollmessungen des Zetapotentials erfolgten mit Standardpartikeln ( $-50 \text{ mV} \pm 5 \text{ mV}$ ).

### 3.1.3 Absorptionsspektroskopie (UV-Vis-Spektroskopie)

Die Absorptionsspektroskopie wird zur Charakterisierung und Identifizierung von Substanzen mit chromophoren Systemen eingesetzt. Möglich ist z.B. die Erkennung von Konjugations- oder Anellierungseffekten, das Vorliegen von *Charge-Transfer-Komplexen*, von Solvation und anderen Prozessen, bei denen die Elektronenhülle des Moleküls beeinflusst wird. Neben qualitativen und quantitativen Aussagen können auch Kinetiken spektroskopisch erfasst werden, sofern durch den untersuchten Prozess eine Veränderung im chromophoren System stattfindet.

Die Methode beruht auf der spezifischen Absorption von elektromagnetischer Strahlung des UV-Vis-Spektralbereiches durch aktive Chromophore. Bei geeigneter Wellenlänge kommt es zur Energieaufnahme durch ein Molekül  $M$ , welches dadurch aus dem elektronischen Grundzustand in einen angeregten Zustand  $M^*$  überführt wird:



Je nach Anregung der Valenzelektronen bestimmter Molekülorbitale sind dabei folgende Übergänge möglich:  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ,  $n \rightarrow \sigma^*$ ,  $n \rightarrow \pi^*$  und  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Die Energie wird in Form von Wärme oder als Licht (Fluoreszenzemission) wieder an die Umgebung abgegeben. Quantitative

Aussagen der UV-Vis-Spektroskopie sind auf der Grundlage des *Lambert-Beer'schen* Gesetzes möglich. Danach ist die Schwächung eines Lichtstrahls der Intensität  $I_0$ , der durch eine Küvette der Schichtdicke  $d$  fällt, abhängig von der Konzentration der Probenlösung nach:

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot c \cdot d \quad \text{Gl.3-7}$$

mit:  $A$  Absorption,  $I_0$  und  $I$  Intensität des einfallenden Lichtes bzw. Intensität der aus der Probe austretenden Strahlung,  $c$  Konzentration des absorbierenden Stoffes,  $\varepsilon$  molarer Absorptionskoeffizient (auch Extinktionskoeffizient),  $d$  Schichtdicke der Probe

Das Lambert-Beer'sche Gesetz besitzt nur für monochromatisches Licht und verdünnte Lösungen Gültigkeit.

Die Aufnahme von Absorptionsspektren ist im Allgemeinen für einen Spektralbereich von 200-900 nm möglich. Für die Messung wird weißes Licht einer Lichtquelle mit der Intensität  $I_0$  durch die Probe geleitet, wobei durch Absorption in der Probe nur noch Licht der Intensität  $I$  diese verlässt. In dem nachgeschalteten Monochromator wird das Licht spektral zerlegt und trifft anschließend auf den Photodetektor, der die Lichtintensität  $I(\lambda)$  als Funktion der Wellenlänge aufzeichnet. Durch Verwendung eines Zweistrahlphotometers mit Referenzstrahlengang können Lösungsmittelleffekte und andere äußere Einflüsse automatisch aus dem Spektrum eliminiert werden [124].

Die Spektren wurden mit einem UV-Vis Recording Spektrophotometer vom Typ UV-2401 PC der Firma Shimadzu Scientific Instruments Inc. (Korneuburg, Deutschland) aufgenommen (Software: UVPC V3.9 / PC Spektroskopie Software).

### 3.1.4 Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie

Die Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie (FTIR) kann auf der Basis von Molekülschwingungen zur qualitativen und quantitativen Analyse sowie zur Konstitutionsermittlung unterschiedlichster Verbindungen herangezogen werden.

Durch die Absorption elektromagnetischer Strahlung im Infrarotbereich (nahes, mittleres, fernes IR: 500-4000 nm) kommt es zu Molekülschwingungen und Rotationen, wenn die an den Bindungen beteiligten Atome in Schwingungen versetzt werden. Bedingung für eine Wechselwirkung mit der Strahlung ist ein veränderbares oder induzierbares Dipolmoment im Molekül (IR-aktiv). Die Schwingungen in Richtung der Bindungsachse zweier Atome oder

Molekülteile werden als Valenzschwingungen (Streckschwingungen) bezeichnet, wodurch eine Dehnung oder Stauchung der Bindung erfolgt. Kommt es in Folge der Anregung zu Änderungen des Bindungswinkels, handelt es sich um Deformationsschwingungen (Biegeschwingungen). Die resultierenden IR-Schwingungsspektren (Absorptionsspektren) sind vor allem für bestimmte funktionelle Gruppen von Molekülen charakteristisch. Die Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie bietet den Vorteil, alle Wellenlängen gleichzeitig detektieren zu können.

Die Aufnahme der Spektren erfolgte mit einem FT-IR Spektrophotometer vom Typ Tensor 37 der Firma Bruker Instruments (Ettlingen, Deutschland) unter Verwendung einer ATR (*attenuated total reflection*)-Brücke (Software Opus V4.2).

### 3.1.5 Fluoreszenzspektroskopie

Die Bestimmung der Fluoreszenz mittels Fluoreszenzspektroskopie kann Informationen zu den Eigenschaften eines angeregten Fluorophors und seiner Umgebung innerhalb seiner Lebensdauer liefern. Prozesse wie Energietransfer, Stoßprozesse, Lösungsmittelrelaxation und Chromophorrotation können auf diese Weise untersucht werden.

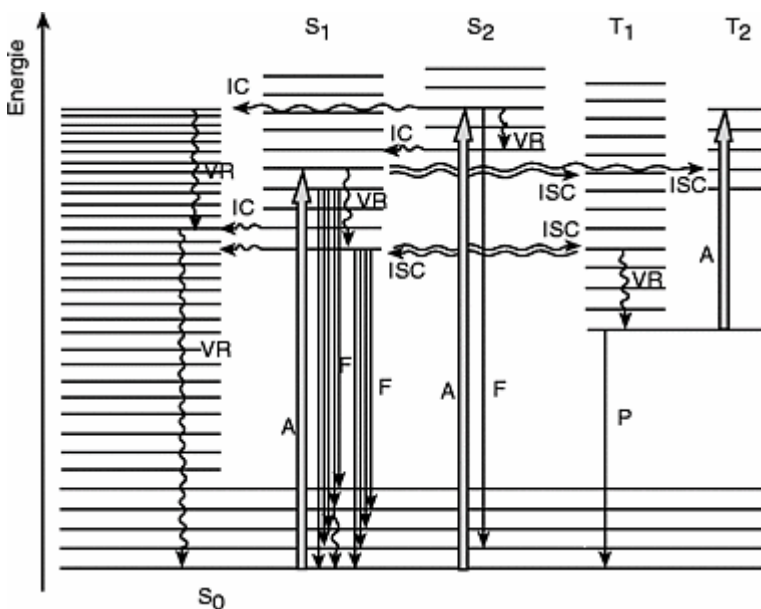


Abb. 16 Vereinfachtes Jablonski-Diagramm: A = Absorption, Anregung, F = Fluoreszenz, P = Phosphoreszenz, VR = Vibrationsrelaxation, IC = innere Umwandlung (E internal conversion), ISC = Interkombinationsübergänge (E intersystem crossing) aus [122]

Die Absorption elektromagnetischer Strahlung durch das Elektronensystem eines Fluorophors überführt diesen in einen angeregten Zustand. Erfolgt eine Energieabgabe unter Emission von

Licht, so spricht man von Fluoreszenz (vgl. auch Kap. 2.5.1.1). Infolge einer spinverbotenen Umkehr nach der Anregung kommt es zur Entstehung der längerlebigen Phosphoreszenz.

Die Messung der Fluoreszenzstrahlung mit einem Fluorometer erfolgt statisch. Monochromatisches oder auch polarisiertes Licht wird dazu in die Probe eingestrahlt und senkrecht zum einfallenden Licht die Emission der Fluoreszenz mit Hilfe eines Photomultipliers aufgezeichnet. Daraus ergeben sich als Messgrößen: die wellenlängenabhängige Fluoreszenzintensität  $I_F(\lambda)$ , die Intensität des absorbierten Lichtes  $I_A(\lambda)$  bzw. die Absorption  $A(\lambda)$  und Polarisierungseffekte. Die Quantenausbeute  $\Phi$  der Fluoreszenz kann aus dem Quotienten von emittiertem und absorbiertem Licht gewonnen werden.

$$\Phi = \frac{I_F}{I_A} \quad \text{Gl.3-8}$$

mit:  $\Phi$  Quantenausbeute,  $I_F(\lambda)$  Fluoreszenzintensität,  $I_A(\lambda)$  Intensität des absorbierten Lichtes

Die Fluoreszenzmessungen wurden mit einem Fluorimeter Typ LS50B der Firma Perkin-Elmer Instruments (Rodgau-Jügesheim, Deutschland), Software FL WIN LAB Version 4.00.02, durchgeführt.

## 3.2 Mikroskopie

### 3.2.1 Rasterelektronenmikroskopie

Die Rasterelektronenmikroskopie (REM) dient der optischen Strukturaufklärung sowohl im technischen als auch biologischen Bereich. Sie zeichnet sich durch eine hohe Tiefenschärfe bei einer bis zu  $10^5$ -fachen Vergrößerung aus. Das Auflösungsvermögen wird mit etwa 1 nm angegeben.

Mit Hilfe einer Feldemissionselektronenkanone wird durch Anlegen einer hohen elektrischen Feldstärke ein Primärelektronenstrahl erzeugt (Kaltkathoden-Elektronenkanone). Unter Vakuum werden diese Elektronen im elektrischen Feld durch eine Spannung von 0,5 - 30 kV beschleunigt. Während der Messung wird der mittels Kondensorenlinse fokussierte Elektronenstrahl durch einen Ablenkgenerator derart gesteuert, dass die Probenoberfläche zeilenförmig abgerastert wird. Beim Auftreffen des Elektronenstrahls auf die Probe kommt es

neben elektrischen Streueffekten zum Herausschlagen von Sekundärelektronen aus der Probenoberfläche. Diese werden als elektrische Impulse durch ein Detektorsystem aufgenommen. Der entstehende Abbildungscontrast basiert auf der unterschiedlichen Sekundärelektronenausbeute und wird vor allem durch das Relief des Objektes bestimmt. Elektrostatische Aufladungen der Objektoberfläche werden durch vorheriges *Sputtern* (Kathodenbestäubung / Hochvakuumbasierte Beschichtungstechnik) mit Metall- oder Kohlenstoffschichten weniger Nanometer verhindert [124].

Die REM-Aufnahmen wurden mit einem Feldemissions-Rasterelektronenmikroskop vom Typ XL-30-SFEG der Firma FEI (Kassel, Deutschland) angefertigt. Vorab wurden die Proben in einem Hochvakuum-Sputter 208 HR der Firma Cressington (Watford, England) mit einer 5 nm Gold-Palladium Schicht gesputtert.

### **3.2.2 Transmissionselektronenmikroskopie**

Bei der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) handelt sich um eine weitere optische Methode zur Strukturaufklärung, welche aber im Vergleich zum REM mit deutlich höheren Beschleunigungsspannungen (60-200 kV) arbeitet und für biologische Proben nicht geeignet ist. Das erzielte Punkt-Auflösungsvermögen liegt mit etwa 0,1 nm eine Größeneinheit unterhalb der REM-Methode.

Die beschleunigten und fokussierten Elektronen werden bei Auftreffen auf das Objekt an Stellen mit viel Materie aus ihrer Flugrichtung abgelenkt bzw. absorbiert. Demzufolge gelangen diese Elektronen nicht durch das sich anschließende Objektiv und erzeugen für diese Stelle des Objektes einen dunklen Kontrast. Je weniger Materie sich im Elektronenstrahl findet, umso heller ist das entsprechende Leuchtschirmbild. Streuung und Absorption der Elektronen als Funktion der Massendickedifferenz des Objektes sind im Wesentlichen für den Abbildungscontrast verantwortlich [122][124].

Die TEM-Aufnahme wurde bei der Bundesanstalt für Materialforschung mit einem Transmissionselektronenmikroskop vom Typ CM 20 der Firma Philips (Eindhoven, Niederlande) angefertigt. Es wurde keine kontrastverstärkende Färbung verwendet.



### 3.2.3 Konfokale Laser-Raster-Mikroskopie

Mit Hilfe dieser mikroskopischen Methode (CLSM, *Confocal Laser Scanning Microscopy*) ist es möglich, optische Schnitte mit definiertem Abstand durch Objekte zu legen. Eine Vielzahl solcher übereinander liegender Schnitte (Stacks) kann rechnerisch zu einer 3D-Darstellung rekonstruiert werden. Damit besteht beispielsweise die Möglichkeit, innerhalb einer Zelle das Verteilungsmuster von Nanopartikeln in einzelnen Zellorganellen sichtbar zu machen.

Bei der konfokalen Laser-Raster-Mikroskopie wird durch Verwendung einer Illuminationslochblende nur ein scheibenförmiger Objektbereich beleuchtet und das Objektfeld während der Bildaufnahme Zeile für Zeile durch einen Laser abgerastert. Eine zweite Lochblende, welche in dieselbe Objektebene fokussiert wie die beleuchtende Optik (Prinzip der Konfokalität) verhindert, dass das Licht aus tieferen und höheren Objektebenen als der Fokusebene zum Detektor gelangt. Durch Reduktion des Streulichtes aus nicht im Fokus liegenden Ebenen wird eine deutliche Erhöhung der Bildschärfe erzielt, welche die Voraussetzung für die Erstellung von optischen Serienschnitten darstellt.

Die Daten wurden mit einem Konfokalen Laserrastermikroskop LSM 510 META der Firma Carl Zeiss MicroImaging GmbH (Jena, Deutschland) aufgenommen.

### 3.3 Röntgenpulverdiffraktometrie

Röntgenpulverdiffraktometrische Untersuchungen (XRPD, *X-Ray Powder Diffraction*) können Aufschluss über Strukturen geben, wie sie in kristallinen oder teilkristallinen Materialien auftreten.

Bei der eingesetzten Röntgenstrahlung handelt es sich um elektromagnetische Strahlung mit Wellenlängen von 10 bis 0,002 nm. Die Probe wird einem kollimierten, monochromatischen Röntgenstrahl ausgesetzt und winkelabhängig die transmittierte Intensität gemessen. Ergebnis bei kristallinen Strukturen sind typische Beugungsbilder, die Hinweise auf die innere Struktur der Probe geben.

Allgemein entstehen Beugungsreflexe an einem Kristallgitter durch konstruktive Interferenz der an den einzelnen Atomen gestreuten Strahlung, sofern die *Bragg'sche* Gleichung erfüllt ist:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad \text{Gl.3-9}$$

mit:  $n$  Ordnung des Reflexes,  $\lambda$  die Wellenlänge der Röntgenstrahlung,  $d$  Abstand zwischen parallelen Gitterebenen, Winkel  $\theta$  zwischen Röntgenstrahl und Gitterebene, so genannter Glanz- oder Braggwinkel

Pulverförmige Proben bestehen aus einer Vielzahl von statistisch orientierten Kristalliten, so dass man nicht mehr zwischen Reflexen mit gleichem Netzebenenabstand unterscheiden kann. Das führt besonders bei höher symmetrischen Raumgruppen zu systematischen Überlagerungen von Beugungsreflexen. Für die Auswertung des Beugungsmusters von polykristallinen Proben wird die Rietveld-Methode herangezogen unter zu Hilfenahme der mathematischen Methode der kleinsten Quadrate.

Im Falle von orientierten Einkristallen liegen die Beugungsreflexe auf Punkten im dreidimensionalen reziproken Raum und können einzeln vermessen werden. Die Symmetrie des Beugungsbildes spiegelt die Symmetrie der untersuchten Struktur wieder. Die relativen Intensitäten der Reflexe geben Aufschluss über die Besetzung der Gitterplätze mit verschiedenen Kristallbausteinen. Die resultierenden Daten können zur Kristallstrukturanalyse herangezogen werden.

Zur Probenuntersuchung wurde ein Röntgenpulverdiffraktometer Typ Stadi P der Firma STOE & CIE GmbH (Darmstadt, Deutschland) mit folgenden Parametern eingesetzt: 2 Theta 1-35° (z.T. 3-35°), Schrittweite 0,5°, 60 s / Schritt (Software Win XPOW 2.07). Die Vermessung der unbehandelten Proben erfolgte zwischen zwei Polyacetatfolien.

### 3.4 Dynamische-Differenzkalorimetrie

Durch thermoanalytische Verfahren wie die Dynamische-Differenzkalorimetrie (DSC, *Differential Scanning Calorimetry*) können Phasentransformationen, d.h. Umwandlungen der Materie in Abhängigkeit von der Temperatur untersucht werden. Anhand der Veränderungen von Schmelz- oder Glasübergangstemperaturen können z.B. Rückschlüsse auf die Bildung neuer Stoffgemische oder Komplexe gezogen werden. Die Glasübergangstemperatur ist auch ein Hinweis für die Beweglichkeit der Polymerketten, woraus z.B. auch Freisetzungseigenschaften kolloidaler Systeme abgeschätzt werden können [154].

Die Phasenübergänge werden thermodynamisch durch Änderungen der *Gibbs*-Energie  $\Delta G$  bzw. ihrer Ableitungen nach der Temperatur  $T$  oder dem Druck  $p$  beschrieben. Umwandlungen erster Ordnung, wie Schmelzprozesse oder Kristallisationen, laufen unter Zufuhr oder Abfuhr latenter Wärme ab. Glasübergänge vieler Polymere finden hingegen ohne derartige latente Wärmeprozesse statt. Man spricht von Umwandlungen zweiter Ordnung, bei welchen lediglich eine endotherme Verschiebung der DSC-Kurve zu beobachten ist [122].

In einem Dynamischen Wärmestrom-Differenzkalorimeter werden Probe und Referenz in demselben Ofen einem Temperaturprogramm unterworfen. Durch die Messung der Temperaturdifferenz an einer definierten Wärmeleitstrecke zwischen Probe und Referenz wird die Wärmestromdifferenz quantitativ erfasst. Die zugrunde liegenden Enthalpieänderungen werden mittels der entsprechenden DSC-Kurve dargestellt.

Die Messungen wurden mit einem Dynamischen Wärmestrom-Differenzkalorimeter vom Typ DSC 821e / Sensor FRS-5 der Firma Mettler Toledo (Nänikon, Schweiz) durchgeführt. Verwendet wurden: Aluminium Standardtiegel 40  $\mu$ l, gedeckelt, Lochdurchmesser:  $\sim$ 0,8 mm, Stickstoff, 50 ml/min.

### 3.5 Chromatographie

#### 3.5.1 Gel-Permeations-Chromatographie

Die Gel-Permeations-Chromatographie (GPC) ist eine Methode zur Trennung von Makromolekülen, mit welcher Molekulargewichtsverteilungen von Polymeren bestimmt werden können. Daraus lassen sich unter anderem Rückschlüsse auf Eigenschaften wie Löslichkeit und Abbau bzw. Freisetzungseigenschaften des Polymers ziehen [154].

Das Trennungsprinzip beruht auf einem Größenausschlussverfahren, bei welchem kleinere Moleküle in den Poren der Säule zurückgehalten werden und dadurch einer längeren Verweildauer unterliegen. Moleküle höheren Molekulargewichtes können nicht in alle definierten Poren der Säule hinein diffundieren und passieren diese deshalb deutlich schneller. Die obere Ausschlussgrenze beschreibt den Punkt, ab welchem die Partikel überhaupt nicht mehr in die Poren eindringen können. Im Gegensatz dazu gibt es eine untere Ausschlussgrenze, unterhalb der alle Poren besetzt werden können. Damit definieren die Ausschlussgrenzen den Bereich, in welchem eine Trennung möglich ist. Der Verteilungskoeffizient  $K_D$  ist ein Maß dafür, welcher Bruchteil des Porenvolumens der Matrix den Molekülen zugänglich ist.

$$K_D = \frac{V_e - V_0}{V_i} \quad \text{Gl.3-10}$$

mit:  $K_D$  Verteilungskoeffizient der Moleküle,  $V_e$  Elutionsvolumen,  $V_0$  Zwischenraumvolumen bzw. Totvolumen der mobilen Phase,  $V_i$  inneres Porenvolumen

Für den  $K_D$  einer konkreten Substanz und bei einer bestimmten Säule gilt:  $0 \leq K_D \leq 1$ . Die Detektion der eluierten Moleküle kann mittels eines RI-(*Refractive Index*), IR- oder UV-Detektors u.a. erfolgen. Im Chromatogramm wird das Detektorsignal als Funktion des Elutionsvolumens  $V_e$  aufgetragen. Zur Korrelation von  $V_e$  mit dem Molekulargewicht  $M$  ist die Erstellung einer Eichkurve notwendig. Bei der so genannten konventionellen Kalibrierung werden Polymerstandards mit niedriger Polydispersität verwendet. Die so bestimmten Molekulargewichte sind relative Molekulargewichte in Bezug auf den verwendeten Standard. Die verwendeten GPC-Komponenten und Prozessparameter sind im Anhang aufgeführt.

### 3.5.2 Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie

Die HPLC-(*High Pressure Liquid Chromatography*) Methode gehört zu den analytischen Verfahren, mit welchen eine Identifizierung, Trennung und Quantifizierung von Substanzen möglich ist.

Die Grundlage dieses Trennungsmechanismus sind unterschiedlich starke Wechselwirkungen der Substanzen beim Passieren einer stationären Phase, infolge dessen die einzelnen Bestandteile nach verschiedenen Retentionszeiten eluiert werden. Unterschieden wird zwischen NP-(Normal Phase) und RP-(Reverse Phase) HPLC. Bei der häufiger verwendeten

RP-HPLC wird eine unpolare stationäre Phase eingesetzt, wobei durch Überziehen der Silicagel-Partikel mit langkettigen Alkanen die ursprünglich polare Phase zur unpolaren (reversed phase) umgewandelt wurde. Im Gegensatz dazu nutzt man für die NP-HPLC eine polare stationäre Phase und die Elutionsgeschwindigkeit kann u.a. über die Wahl des Eluenten (Elutrope Reihe) gesteuert werden [122].

Die verwendeten HPLC-Komponenten sind im Anhang aufgeführt.

