



Elisabeth Rossegger

# **Vernetzung nicht-funktionalisierter Poly(hydroxyalkanoat)e**

MASTERARBEIT

zur Erlangung des akademischen Grades einer  
Diplom-Ingenieurin

der Studienrichtung Technische Chemie  
erreicht an der

Technischen Universität Graz

Dipl.-Chem. Univ. Ass. Dr. rer.nat. Frank Wiesbrock  
Institut für Chemische Technologie von Materialien  
Technische Universität Graz

August 2010

Deutsche Fassung:  
Beschluss der Curricula-Kommission für Bachelor-, Master- und Diplomstudien vom 10.11.2008  
Genehmigung des Senates am 1.12.2008

## EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst, andere als die angegebenen Quellen/Hilfsmittel nicht benutzt, und die den benutzten Quellen wörtlich und inhaltlich entnommene Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am .....

.....  
(Unterschrift)

Englische Fassung:

## STATUTORY DECLARATION

I declare that I have authored this thesis independently, that I have not used other than the declared sources / resources, and that I have explicitly marked all material which has been quoted either literally or by content from the used sources.

.....  
date

.....  
(signature)

Ein Talent hat jeder Mensch,  
nur gehört zumeist das Licht der Bildung dazu,  
um es aufzufinden.

*(Peter Rosegger)*

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>AUFGABENSTELLUNG .....</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>BISHERIGER KENNTNISSTAND .....</b>	<b>7</b>
3.1	POLY(HYDROXYALKANOAT)E PHAS .....	7
3.2	ANWENDUNGEN VON PHAS .....	15
3.3	PRODUKTION VON PHAS .....	16
3.4	PHA-METABOLISMUS .....	19
3.5	CHEMISCHE MODIFIKATION VON PHAS.....	21
3.5.1	<i>Block/Graft Copolymere von PHAs .....</i>	<i>21</i>
3.5.2	<i>Chlorierung von PHAs.....</i>	<i>21</i>
3.5.3	<i>Die Vernetzung von PHAs.....</i>	<i>21</i>
3.5.4	<i>Photochemie .....</i>	<i>25</i>
3.5.5	<i>Epoxidierung von ungesättigten PHAs .....</i>	<i>26</i>
3.5.6	<i>Hydroxylierung von ungesättigten PHAs .....</i>	<i>27</i>
3.5.7	<i>Carboxylierung von ungesättigten PHAs .....</i>	<i>27</i>
3.6	DEGRADIERUNG VON PHAS .....	28
3.7	CHARLESBY-PINNER–ANALYSE .....	30
3.8	POLYMERVERARBEITUNG .....	31
3.8.1	<i>Herstellung von Prüfkörpern.....</i>	<i>33</i>
3.9	MECHANISCHE POLYMERCHARAKTERISIERUNG .....	35
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE UND DISKUSSION .....</b>	<b>37</b>
4.1	POLYMERANALOG REAKTIONEN .....	37
4.1.1	<i>Thermische Vernetzung.....</i>	<i>38</i>
4.1.2	<i>Halogenierung.....</i>	<i>38</i>
4.1.3	<i>Photobromierung .....</i>	<i>39</i>
4.1.4	<i>Vernetzung mit Dicumylperoxid.....</i>	<i>40</i>
4.1.5	<i>Hydrolyse in der Mikrowelle .....</i>	<i>40</i>

---

4.1.6	<i>Vernetzung mit Weinsäure</i> .....	41
4.1.7	<i>Vernetzung mit TVC</i> .....	42
4.1.8	<i>Reaktion mit LDA</i> .....	42
4.2	SOL-GEL ANALYSE DER PHOTOCHEMISCHEN VERNETZUNG .....	44
4.2.1	<i>Charlesby-Pinner - Analyse</i> .....	49
4.2.2	<i>GPC - Ergebnisse</i> .....	53
4.2.3	<i><sup>1</sup>H-NMR - Messungen</i> .....	55
4.2.4	<i>AFM - Aufnahmen</i> .....	58
4.2.5	<i>Photolithographie</i> .....	60
4.3	FORMKÖRPERHERSTELLUNG UND MECHANISCHE CHARAKTERISIERUNG .....	62
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>66</b>
<b>6</b>	<b>ABSTRACT</b> .....	<b>68</b>
<b>7</b>	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>70</b>
<b>8</b>	<b>EXPERIMENTALTEIL</b> .....	<b>72</b>
8.1	ANALYSENMETHODEN.....	72
8.1.1	<i>Infrarot-Spektroskopie</i> .....	72
8.1.2	<i><sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie</i> .....	72
8.1.3	<i>GPC</i> .....	72
8.1.4	<i>AFM</i> .....	73
8.1.5	<i>Chemikalien</i> .....	73
8.2	POLYMERANALOGUE REAKTIONEN .....	74
8.2.1	<i>Thermische Vernetzung</i> .....	74
8.2.2	<i>Halogenierung</i> .....	75
8.2.3	<i>Photobromierung</i> .....	75
8.2.4	<i>Vernetzung mit Dicumylperoxid</i> .....	75
8.2.5	<i>Hydrolyse in der Mikrowelle</i> .....	75
8.2.6	<i>Vernetzung mit Weinsäure</i> .....	76
8.2.7	<i>Vernetzung mit TVC</i> .....	76
8.2.8	<i>Reaktion mit LDA</i> .....	76
8.3	SOL/GEL-ANALYSE DER PHOTOCHEMISCHEN VERNETZUNG .....	77
8.3.1	<i>GPC – Analysen</i> .....	80
8.3.2	<i>Photolithographie</i> .....	81

---

8.4	FORMKÖRPERHERSTELLUNG UND MECHANISCHE CHARAKTERISIERUNG .....	82
8.4.1	<i>Zugversuch-Ergebnisse Probenserie 1 .....</i>	<i>84</i>
8.4.2	<i>Zugversuch-Ergebnisse Probenserie 2 .....</i>	<i>85</i>
<b>9</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>86</b>

# 1 Einleitung

Kunststoffe sind aus dem alltäglichen Leben nicht mehr wegzudenken. Herkömmliche Kunststoffe werden aus petrochemischen Rohstoffen im großen Maßstab produziert; viele Anwendungen wären ohne ihre Existenz nicht möglich. Die variablen Eigenschaften ermöglichen den Einsatz dieser Materialien in den verschiedensten Bereichen. Jedoch weisen erdöl-basierte Kunststoffe auch Nachteile und damit immer größer werdende Probleme auf. Sie sind beständig gegen biologischen Abbau; die Herstellung ist abhängig von der begrenzten Ressource Rohöl mit stark schwankenden Preisen (Abb. 1), weshalb vermehrt nach Alternativen gesucht wird. Biopolymere aus nachwachsenden Rohstoffen ermöglichen hier einen viel versprechenden Ausweg aus der bestehenden Müllproblematik, indem sie petrochemisch hergestellte Kunststoffe zumindest teilweise ersetzen können.

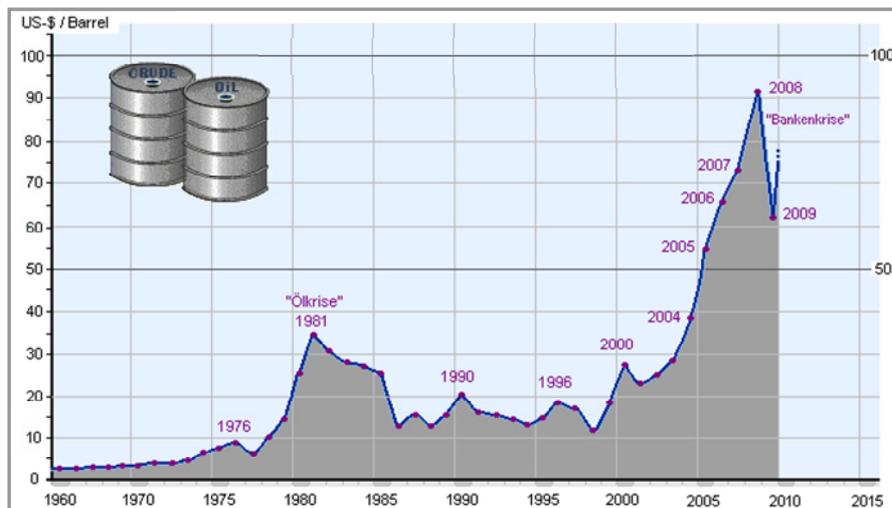


Abb. 1: Rohölkosten pro Barrel in US-\$ im Verlauf von 1960 – 2010.<sup>1</sup>

Das Problem der konventionellen Kunststoffe mit ihrer über mehrere Jahrzehnte langen Abbauresistenz in der Umwelt beruht einerseits darauf, dass sie nicht wasserlöslich sind, und andererseits Mikroorganismen nicht zugänglich sind, wodurch die Zersetzung der polymeren Bestandteile durch Mikroorganismen weitestgehend ausgeschlossen ist.

In vielen Anwendungen ist diese Beständigkeit gegen Umwelteinflüsse erwünscht, doch für Gegenstände zum einmaligen Gebrauch wie beispielsweise Plastikbeutel, -geschirr und -flaschen sind degradierbare Kunststoffe eine willkommene Alternative.

Biokompostierbare Polymere aus erneuerbaren Rohstoffen müssen dafür jedoch sowohl in den Qualitätsanforderungen als auch kostentechnisch wettbewerbsfähig sein, um die petrochemischen Kunststoffe langfristig ersetzen zu können.

Biopolymere sind natürliche Makromoleküle, die im Gegensatz zu den synthetisch hergestellten Polymeren von lebenden Organismen produziert werden. Generell bestehen Biopolymere aus wasserlöslichen Bausteinen wie Acetat, Zucker, Phosphaten, Amino- oder Carbonsäuren.

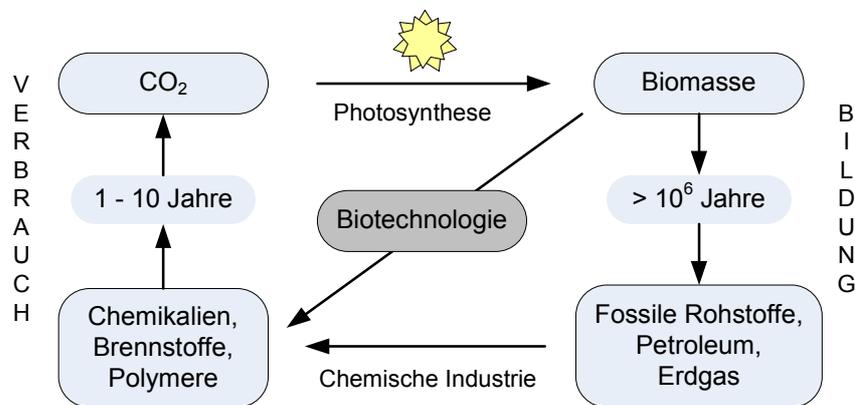
Lebende Materie ist in der Lage, eine überwältigende Varietät von Polymeren zu synthetisieren, die entsprechend ihrer chemischen Struktur in 8 Hauptgruppen unterteilt werden kann: (1) Nukleinsäuren, wie sie für die Erbgutträger Ribonukleinsäure RNS und Desoxyribonukleinsäure DNS verwendet werden, (2) Poly(amid)e wie Proteine und Poly(aminosäure)n, (3) Poly(saccharid)e, zu denen Cellulose und Stärke zählen, (4) organische Poly(oxoester) wie Poly(hydroxyalkanoat)e, (5) Poly(thioester), (6) anorganische Poly(ester), deren Vertreter Polyphosphat ist, (7) Poly(isoprenoid)e wie natürlicher Gummi und (8) Poly(phenol)e, zu denen Lignin zählt.

Biopolymere erfüllen zahlreiche wichtige Aufgaben in Organismen, wie beispielsweise Genexpression, Reaktionskatalyse, Speicherung von Kohlenstoff, Stickstoff, Phosphor und anderen Nährstoffen sowie Energiespeicherung, Verteidigung und Schutz gegen den Angriff anderer Zellen, Kommunikation mit der Umgebung und vielem mehr. Darüber hinaus sind einige Biopolymere strukturelle Komponenten von Gewebe, Zellen und sogar ganzen Organismen.

Um all diese verschiedenen Funktionen zu erfüllen, müssen Biopolymere diverse Eigenschaften aufweisen, die direkt oder indirekt für eine Vielzahl von Anwendungen verwendet werden können, weshalb diese Polymere äußerst attraktiv für die Industrie sind. Die Tatsache, dass sie aus erneuerbaren Ressourcen gewonnen werden können und biologisch abbaubar sind, steigert dieses Interesse in Zeiten von limitierten Erdölvorkommen und dem Bewusstsein über Kohlenstoff-Fußabdrücke enorm.

Pflanzen und Mikroorganismen sind in der Lage, aus  $\text{CO}_2$  selbstständig ihre benötigten Kohlenstoffverbindungen zu synthetisieren, womit sie die  $\text{CO}_2$ -Bilanz der Atmosphäre entlasten, durch ihre biologische Kompostierbarkeit das Entsorgungsproblem reduzieren und den Wunsch der Konsumenten nach Nachhaltigkeit erfüllen.

Signale, die den Übergang auf nachwachsende Rohstoffe ankündigen, sind auch in der chemischen Industrie wahrzunehmen. Wie aus dem Kreislauf des Kohlenstoffs (Schema 1) ersichtlich ist, ist für diese Entwicklung auch das Ungleichgewicht zwischen Verbrauch und Bildung der Rohstoffe verantwortlich. Als Lösungsstrategie wird hier die Biotechnologie (weiße, industrielle Biotechnologie) aufgezeigt.



**Schema 1:** Globaler Kohlenstoffkreislauf.<sup>2</sup>

Was diesen Biopolymeren einen enormen Vorteil im Vergleich zu konventionellen petrochemischen Kunststoffen einräumt, ist ihre Bioabbaubarkeit unter geeigneten ökologischen Bedingungen. Eine große Anzahl von Bakterien und Pilzen ist in der Lage, diese Polymere mit Hilfe von Depolymerasen abzubauen und als Kohlenstoff- und Energiequelle zu nutzen, weshalb diese Biopolymere für die Verwendung von kurzlebigen Gebrauchsartikeln äußerst gefragt sind.

Einzelne bioabbaubare Polymere und deren enzymkatalysierte Biosynthese, deren Abbau und Materialeigenschaften sind bereits gut erforscht. Auch das hat dazu beigetragen, Biopolymere für den Einsatz in der Verpackungsindustrie, Medizin, Pharmazie und anderen Bereichen zu verwenden.

Betrachtet man jedoch die Entwicklungen der letzten Jahrzehnte und der dazugehörigen Literatur, stellt man fest, dass der Wissensstand und das

Potential bei weitem noch nicht ausgeschöpft sind. Hinzu kommt, dass nur ein Teil der viel versprechenden Biopolymere in entsprechenden Mengen verfügbar ist.

Nichtsdestotrotz sind Wissenschaftler dabei, diese Biopolymere als Chemikalien und neue Materialien einzusetzen und als Modell für neue, synthetische Polymere mit verbesserten physikalischen Eigenschaften zu verwenden.<sup>3</sup>

In der vorliegenden Arbeit wurden kurzkettige Poly(hydroxyalkanoat)e scl-PHAs mit nicht-funktionalisierten Seitenketten verwendet, die aus Mikroorganismen mit wenig bzw. keinen spezifischen Anforderungen an die Kohlenstoffquelle als Nährmedium,<sup>4,5</sup> und somit aus billigen Kohlenstoffquellen herstellbar und dementsprechend kommerziell in verhältnismäßig großen Mengen verfügbar sind.<sup>6</sup>

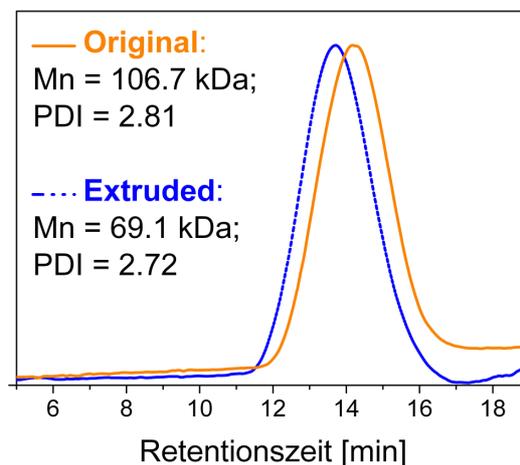
PHAs sind Homo- oder Heteropoly(ester), die von Mikroorganismen synthetisiert und intrazellulär als Reservpolymer für Kohlenstoff und Energie gespeichert werden.<sup>37</sup> Sie sind leicht zugänglich, und ihre Synthese aus erneuerbaren Rohstoffquellen, basierend auf landwirtschaftlichen Erzeugnissen oder sogar auf industriellen Abfallprodukten, ermöglicht nachhaltige, geschlossene Kreisläufe für die Produktion und Verwendung dieser Poly(ester) im Vergleich zu klassischen Kunststoffen.<sup>7</sup>

## 2 Aufgabenstellung

Die Herausforderung bei schmelzverarbeitenden Formgebungsprozessen, die für kommerzielle Polymere angewandt werden, ist, dass sie bei thermisch instabilen Biopolymeren zur Verringerung des Molekulargewichts führen.

Der Vorteil der Verwendung von Poly(hydroxyalkanoat)en mit kurzen, nicht-funktionalisierten Seitenketten (scl-PHAs) im Rahmen dieser Arbeit besteht in ihrer leichten Zugänglichkeit und der Synthese aus billigen Nährmedien. Die einfache Struktur ohne funktionale Seitenketten ermöglicht eine einfache Herstellung im Vergleich zu funktionalisierten PHAs und erhöht somit die Wirtschaftlichkeit. Der Homopolyester Poly(hydroxybutyrat) PHB ist der bekannteste Vertreter der scl-PHAs.

Die Schmelztemperatur von Poly(hydroxybutyrat) liegt im Bereich zwischen 170 und 180 °C, weshalb die im Prozess angewendeten Temperaturen höher als 180 °C sein müssen. Bei diesen Temperaturen kommt es jedoch schon zu Polymerdegradation und damit einhergehend zu einer drastischen Verringerung des Molekulargewichts und veränderten Polymereigenschaften (Abb. 2).



**Abb. 2:** GPC-Chromatogramme des extrudierten und ursprünglichen Polymers.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist, kommerziell erhältliche scl-PHAs chemisch zu modifizieren, um deren mechanische Eigenschaften zu verbessern, motiviert

insbesondere durch den Kettenbruch und die damit einhergehende Verringerung des Molekulargewichts während des Spritzgusses der scl-PHAs.

Die hierfür bevorzugte Strategie ist das Quervernetzen der Polymerstränge vor der Verarbeitung, um so den Kettenbruch bei Temperaturen oberhalb des Schmelzpunktes präventiv zu korrigieren.

Als Ideen für das Crosslinking der scl-PHAs erscheint einerseits die Modifizierung der scl-PHAs sinnvoll, um funktionelle Gruppen für eine anschließende Vernetzung einzuführen, andererseits kommt der Zusatz eines Vernetzungsreagenz mit anschließender thermisch oder photochemisch induzierter Vernetzung in Betracht. Eine mögliche Vernetzung bei Raumtemperatur könnte einerseits den thermisch induzierten Kettenbruch verringern und die Energiekosten minimieren.

Neben den synthetisch-präparativen Arbeiten sind zusätzlich der Spritzguss der scl-PHAs zu Formkörpern sowie die Charakterisierung der spritzgegossenen Formkörper anhand der mechanischen Eigenschaften Ziele dieser Masterarbeit.

## 3 Bisheriger Kenntnisstand

### 3.1 Poly(hydroxyalkanoat)e PHAs

Poly(3-hydroxyalkanoat)e (PHAs) sind aliphatische Poly(ester), bestehend aus Kohlenstoff, Sauerstoff und Wasserstoff, die erstmals 1926 von Lemoigne aus *Bacillus megaterium* isoliert wurden (Schema 2).<sup>8</sup> Trotzdem war die Tatsache, dass Bakterien Poly(ester) produzieren können, für Chemiker, Biochemiker und Mikrobiologen bis 1958 unbekannt, obwohl ihr Vorkommen in Bakterienzellen in isolierbaren Mengen, ihre chemische Zusammensetzung und der Fakt, dass es sich um Polymere handelt, bereits mehr als 30 Jahre vorher in der Literatur berichtet wurde.



**Schema 2:** Allgemeine chemische Struktur von Poly(3-hydroxyalkanoat)en PHAs (*links*) und Poly(3-hydroxybutyrat) PHB (*rechts*). Die Monomere haben ein chirales Zentrum in (R)-Konfiguration.

Seit 1980 wurden viele Bakterien entdeckt, die verschiedene Poly(ester) mit 3-, 4- oder 5-Hydroxyalkanoat-Einheiten synthetisieren. Tab. 1 zeigt einige aliphatische, biodegradierbare Poly(ester).

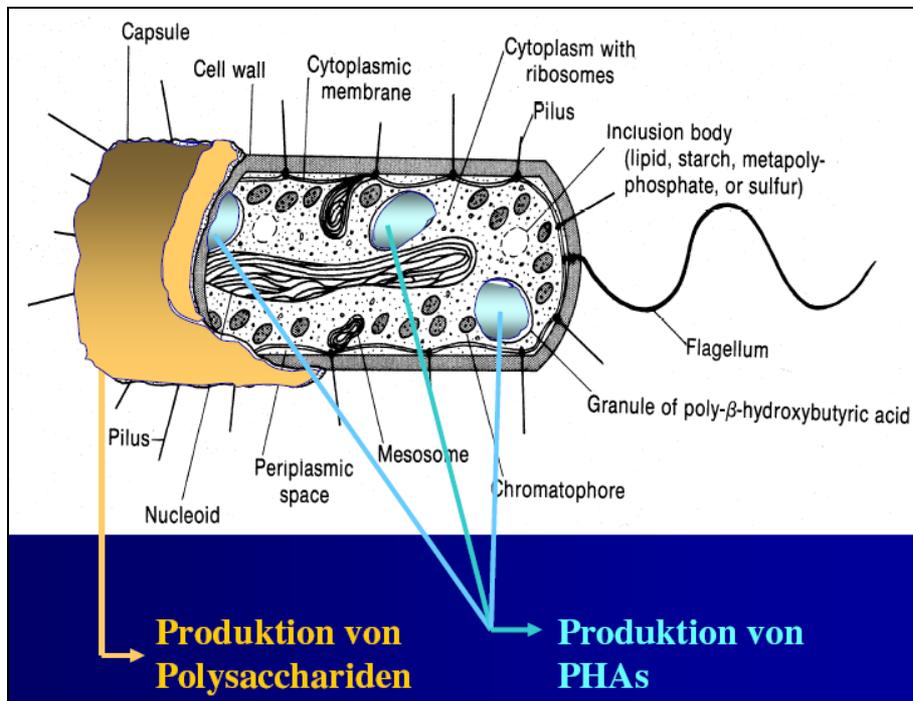
**Tab. 1:** Einige aliphatische Poly(ester), die als biodegradierbar bezeichnet werden.

Polymer	Abkürzung	Chemische Struktur
Poly(glykolsäure)	PGA	$\left[ \text{O} - (\text{CH}_2) - \text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \end{array} \right]_n$
Poly(milchsäure)	PLA	$\left[ \text{O} - \text{CH} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\   \end{array} - \text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \end{array} \right]_n$
Poly(caprolacton)	PCL	$\left[ \text{O} - (\text{CH}_2)_5 - \text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \end{array} \right]_n$
Poly(3-hydroxybutyrat)	PHB	$\left[ \text{O} - \text{CH} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\   \end{array} - \text{CH}_2 - \text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \end{array} \right]_n$

PHAs sind natürlich vorkommende, unverzweigte Polymere, die aus 3-Hydroxyfettsäure-Monomeren zusammengesetzt sind. Sie werden von Bakterien als Folge von metabolischem Stress aufgrund limitierter Versorgung mit essentiellen Nährstoffen und einem Überangebot an Kohlenstoff, in Form von Zelleinschlüssen als Speicherstoff eingelagert.

Diese sogenannten globulären Granula dienen als intrazelluläre Nahrungs- und Energiereserven und werden daher von der Zelle als Reaktion auf Limitierung einer wesentlichen Wachstumskomponente in der Umgebung produziert.

PHAs reichern sich als Einschlüsse im Zytoplasma von Gram-positiven und Gram-negativen Bakterien an und können in sehr hohen Konzentrationen gespeichert werden (Abb. 3).<sup>9</sup>

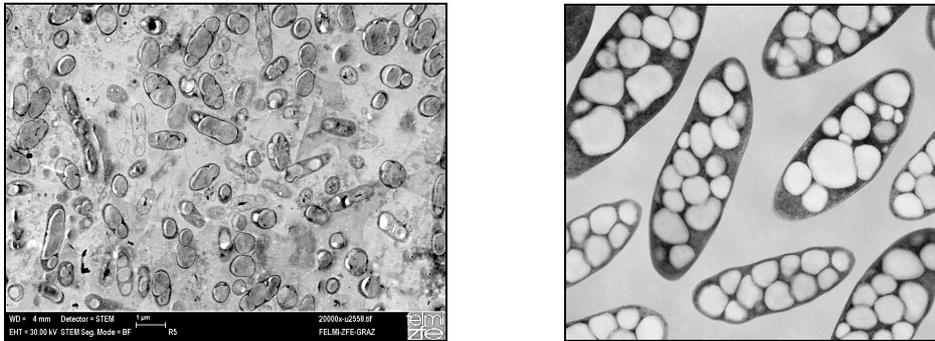


**Abb. 3:** Vereinfachte Struktur eines Bakteriums.<sup>2</sup>

PHAs scheinen sozusagen die bakterielle Alternative zur Speicherung von Fett zu sein. Unter bestimmten Bedingungen können Polymere mehr als 80% der Zelltrockenmasse an PHAs akkumulieren.<sup>10</sup>

Studien mit zahlreichen Organismen zeigten, dass in-vivo PHB-Granula Durchmesser von 0,2 - 0,7 µm aufweisen und von einer 2 nm dicken Membranschicht aus Lipiden und Proteinen umgeben sind (Abb. 4).

In den kristallinen Bereichen der PHA-Granula nimmt das Biopolymer eine helikale Konformation ein, die durch van der Waals-Wechselwirkungen stabilisiert wird.<sup>7</sup> Die reguläre Kette besitzt eine zweifache Drehachse; der Abstand der Repetiereinheiten in der Helix beträgt 5,96 Angström.<sup>11</sup>

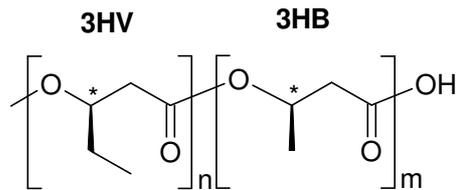


**Abb. 4:** Links: *Cupriavidus necator* DSM 545, kultiviert an der Technischen Universität Graz, Institut für Biotechnologie und Bioprozesstechnik.<sup>12</sup> Rechts: PHA-Granula in Mikroorganismen.<sup>13</sup>

PHAs findet man in verschiedenen Arten von Bakterien, die unter unterschiedlichsten natürlichen Bedingungen wachsen und die Fähigkeit besitzen, das Monomer zu produzieren und zu polymerisieren. Voraussetzung ist, wie bereits erwähnt, dass zwar ausreichend Zucker, Stärke oder andere Kohlenstoffquellen bereit stehen, weitere wichtige Nährstoffe wie Phosphor, Stickstoff oder Spurenelemente aber zugleich knapp sind.<sup>10,14</sup> Werden die limitierenden Wachstumsbedingungen durch die Zugabe von Phosphor oder Stickstoff gemildert, wird das als Energiereserve gespeicherte PHB zu Acetyl-CoA katabolisiert (Schema 10).<sup>15</sup>

PHB ist ideal als Kohlenstoff-Speicherungspolymer, da es wasserunlöslich, chemisch und osmotisch inert ist, und mit Hilfe von einer Serie von enzymatischen Reaktionen in der Zelle rasch rekonvertiert werden kann.<sup>16</sup>

Das häufigste und am besten untersuchte PHA ist das Homopolymer Poly(3-hydroxybutyrat) PHB, bei dem die Alkylgruppe eine Methylgruppe ist (Schema 2). Copolymere bestehend aus 3-Hydroxybutyrat und 3-Hydroxyvalerat (PHB-HV) sind weitere gut bekannte Vertreter der PHAs (Schema 3).<sup>3</sup>



**Schema 3:** Chemische Struktur von Poly(3-hydroxybutyrat-co-3-hydroxyvalerat).

Die Carboxylgruppe eines Monomers ist über eine Esterbindung mit der Hydroxylgruppe des Nachbarmonomers verbunden. Die Repetiereinheit von PHB besitzt -wie in Schema 3 gezeigt- ein chirales Zentrum; der hydroxyl-substituierte Kohlenstoff besitzt R-Konfiguration, und bereits Lemoigne beschrieb die optische Aktivität des Polymers.<sup>3</sup>

Das PHB-Homopolymer ist ein hoch kristalliner Thermoplast mit einem Schmelzpunkt von ca. 180 °C. Tatsächlich ist PHB nur ein Teil einer großen „Familie“ von natürlich vorkommenden Poly(ester)n, die alle dasselbe Rückgrat aus drei Kohlenstoffatomen aufweisen, jedoch in der Alkylgruppe an der C-3 bzw.  $\beta$ -Position variieren. All diese Polymere werden generell als Poly(hydroxyalkanoate), PHAs, bezeichnet und aufgrund ihres natürlichen Ursprungs weisen alle dieselbe Konfiguration am chiralen Zentrum an der C-3 Position auf, die ausschlaggebend für ihre physikalischen Eigenschaften und vor allem die in der Biosynthese und dem Bioabbau involvierten Enzymaktivitäten ist. Das bedeutet, die chiralen Bausteine liegen enantiomerenrein in der (R)-Konfiguration vor.

Die Einteilung der PHAs in zwei Klassen erfolgt aufgrund der Größe der Repetiereinheiten: Kurzkettige PHAs (short-chain-length: scl) bestehen aus drei bis fünf Kohlenstoffatomen pro Monomer, wohingegen mittellange PHAs (medium-chain-length: mcl) aus 6 bis 16 Kohlenstoffatomen pro Monomer bestehen.<sup>17,18</sup>

Typische Vertreter von scl-PHAs sind Poly(3-hydroxybutyrat), PHB; Poly(3-hydroxyvalerat), PHV; und Poly(3-hydroxybutyrat-co-3-hydroxyvalerat), PHB-HV. Zu den mcl-PHAs zählen beispielsweise Poly(3-hydroxyoctanoat), PHO, und Poly(3-hydroxynonanoat), PHN, die meistens Copolymere mit 3-Hydroxyhexanoat, HHx, 3-Hydroxyheptanoat und/oder 3-Hydroxydecanoat bilden.<sup>19</sup>

Mcl-PHAs haben im Vergleich zu scl-PHAs einen niedrigeren Kristallinitätsgrad sowie geringere Schmelz- und Glasübergangstemperaturen. Mit Schmelzpunkten im Bereich zwischen 40 und 60 °C und Glasübergangstemperaturen unter

0 °C erweichen mcl-PHAs bereits bei Raumtemperatur, was zu Limitierungen im Anwendungsbereich führt.<sup>20</sup> Darum müssen die physikalischen und mechanischen Eigenschaften mikrobieller Poly(ester) verbessert und anwendungsspezifisch modifiziert werden.<sup>31</sup>

Aufgrund der substrat-unspezifischen PHA-Synthasen, die die Schlüsselenzyme für die PHA-Biosynthese repräsentieren, ist die Vielfältigkeit bakterieller Poly(ester) aus Fermentationsprozessen besonders groß. Bis heute sind mehr als 150 verschiedene Hydroxyalkanoat-Monomere bekannt.<sup>10</sup>

Die Eigenschaften dieser Materialien und infolgedessen auch die Anwendungen hängen überwiegend von der Monomierzusammensetzung und damit vom Produktionsstamm, den geeigneten Kultivierungsbedingungen und den zur Verfügung gestellten Kohlenstoffquellen ab.<sup>21,22</sup> Das bedeutet, dass man über die Herstellungsstrategie die Zusammensetzung des Poly(ester)s ändern und damit die Produkteigenschaften steuern kann. Die Vielfältigkeit verfügbarer PHAs kann durch chemische Modifikation weiter ausgedehnt werden.

Aufgrund der ähnlichen Schmelzpunkte von PHB und Poly(propylen) (Tab. 2) kann man davon ausgehen, dass PHB mit Poly(olefin)en als Thermoplast konkurrieren kann, mit dem zusätzlichen Vorteil der Bioabbaubarkeit.

**Tab. 2:** Physikalische Eigenschaften verschiedener PHAs im Vergleich mit konventionellen Kunststoffen.<sup>23</sup>

Polymer	T <sub>m</sub> [°C]	Zugfestigkeit [MPa]	Bruchdehnung [%]
PHB	177	43	5
P(HB-co-10% HV)	150	25	20
P(HB-co-20% HV)	135	20	100
Poly(propylen) PP	170	34	400

HB: 3-Hydroxybutyrat; HV: 3-Hydroxyvalerat.

Obwohl PHB in seinen physikalischen Eigenschaften dem Poly(propylen) ähnelt, erfolgte der industrielle Einsatz aufgrund der geringen thermischen Stabilität und

der Sprödigkeit in keinem vergleichbarem Ausmaß zu petrochemisch basierten Kunststoffen.<sup>24,25</sup>

Durch den Zusatz von Propionsäure im Nährmedium gelang die Copolymerisation von Poly(hydroxybutyrat) PHB mit Poly(hydroxyvalerat) PHV zum Copoly(ester) PHB-HV mit verbesserten mechanischen Eigenschaften im Gegensatz zum Homopolymer.<sup>26,27</sup> Die geringe Temperaturstabilität und die hohe Sprödigkeit von PHB kann somit reduziert werden, simultan sinken jedoch auch Schmelzpunkt und Glasübergangstemperatur. PHB-HV zeigt je nach Polymer-Zusammensetzung (HV-Anteil) verringerte Schmelzpunkte von 100 bis 160 °C und kam unter dem Handelsnamen BIOPOL<sup>®</sup> von Monsanto auf den Markt. Erste kommerzielle Anwendung fand das Copolymer in Form von Verpackungsmaterial für Shampooflaschen, die jedoch aus wirtschaftlichen Gründen eingestellt werden musste.

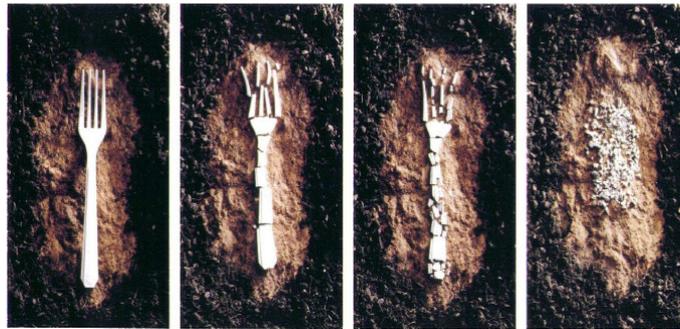
PHB-HV Copolymere werden von *Alcaligenes latus*, *Bacillus cereus*, *P. pseudoflava*, *P. cepacia*, *Micrococcus halodenitrificans* und *R. eutropha* synthetisiert, wenn die Zellen mit Glucose (im Fall von *A. latus* mit Sucrose) und Propionsäure unter stickstoff-limitierenden Bedingungen versorgt werden.<sup>28</sup>

Ein Vergleich ausgewählter Eigenschaften von PHB und Biopol ist in Tab. 3 zusammengefasst. Das Copolymer ist wie PHB vollständig unter geeigneten Umgebungsbedingungen kompostierbar und die Polymerzusammensetzung kann über einen breiten Bereich aufgrund der Zusammensetzung der Wachstumskomponenten variiert werden.

**Tab. 3:** Ausgewählte Eigenschaften von PHB und Biopol<sup>®</sup> (PHB / 19.1% PHV).<sup>29</sup>

Eigenschaften	PHB	Biopol <sup>®</sup> (PHB-HV)
Dichte [g/cm <sup>3</sup> ]	1,25	1,20
Zugfestigkeit [N/mm <sup>2</sup> ]	40	32
Bruchdehnung [%]	2,0	8,0
E-Modul [N/mm <sup>2</sup> ]	3500	1200
Glasübergangstemperatur [°C]	9	0
Schmelztemperatur [°C]	177	150

Produkte aus PHB sind unter normalen Gebrauchsbedingungen über Jahre haltbar. PHB wird nur abgebaut, wenn die Umgebung für das Wachstum von Mikroorganismen geeignet ist, wie beispielsweise im Boden oder im Kompost (Abb. 5). Die Degradationskinetik hängt dann von der Umgebungstemperatur und der Dicke des Polymers ab.



**Abb. 5:** Abbaufortschritt von PHA am Beispiel einer Gabel.<sup>2</sup>

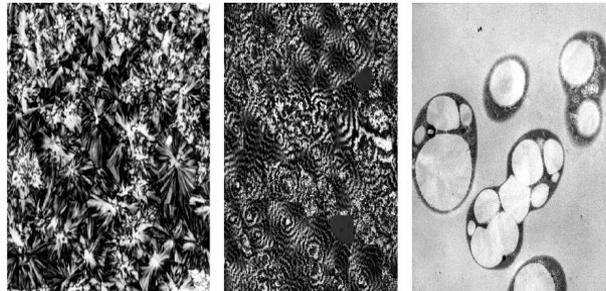
Die thermische Stabilität von Biopolymeren in der industriellen Verarbeitung ist im Hinblick auf die Substitution von erdöl-basierten Kunststoffen ein wichtiges Thema. Die Formgebung kommerzieller Thermoplaste erfolgt in schmelzverarbeitenden Prozessen, die bei PHB bereits Degradation und somit Änderungen der Eigenschaften induzieren.

Nachdem der Schmelzpunkt von PHB im Bereich von 170-180 °C liegt, muss die Verarbeitungstemperatur höher als 180 °C sein. Bei diesen Temperaturen erfolgt jedoch bereits der thermische Abbau von PHB sehr schnell.<sup>30</sup> Der Degradationsmechanismus beinhaltet Kettenbruch, der zu rascher Verringerung des Molekulargewichts führt. Bei Temperaturen über 300 °C führt der Polymerabbau zu niedermolekularen Komponenten,<sup>31</sup> wobei Kettenbruch bereits bei Temperaturen unterhalb des Schmelzpunktes beginnt.<sup>32</sup>

Deshalb mussten bei der Formgebung der Biopolymere im Rahmen dieser Arbeit die Parameter für den Spritzguss optimiert werden, um oben genannte Abbaureaktionen zu minimieren.

Aufgrund der beachtenswerten Stereo-Regularität der perfekt isotaktischen Kettenkonfiguration des biokatalysierten Polymerisationsprozesses weisen PHB-Homopolymere einen ungewöhnlich hohen Grad an Kristallinität auf (Abb. 6), und sind daher brüchiger als das alltägliche Massepolymer Poly(propylen).

Diese sind daher verhältnismäßig feste und spröde Materialien, die trotz des hohen Potentials von biologisch abbaubaren Kunststoffen in Zeiten von Müllproblematik und stark schwankenden Erdölpreisen für viele Anwendungen nicht geeignet sind.



**Abb. 6:** Teilkristalline Kunststoffe im Lichtmikroskop. *Links und Mitte:* Biopolymer PHB, aus dem Bakterium *Alcaligenes latus* isoliert. *Rechts:* Das Bakterium *Alcaligenes latus*.<sup>33</sup>

Der Einbau von 3-Hydroxyvaleransäure-Einheiten in die PHB Ketten führt zu einer Verringerung der Kristallinität, des Schmelzpunktes und der Festigkeit, aber einer Zunahme der Zähigkeit im Polymer.

### 3.2 Anwendungen von PHAs

Die Produktvielfalt von PHAs reicht von Verpackungsmaterialien bis zu textilen Anwendungen (Abb. 7).<sup>25</sup> Agro-industrielle Anwendungen nutzen PHAs als Trägermaterialien zur kontrollierbaren Freisetzung von Düngern oder Pestiziden. Chirale Bausteine der Biopolymere können zur Feinchemikalien-Synthese genutzt werden. Weiters gibt es chirurgische Anwendungen als künstliche Organe, Blutgefäße, Implantate sowie Materialien zur Wundversorgung, etc.<sup>23</sup> PHB-HV wird sogar zur kontrollierten Freisetzung von Medikamenten verwendet, indem das Polymer den pharmazeutischen Wirkstoff umschließt und erst freigibt, wenn das Polymer genügend abgebaut ist. Der Vorteil des Copoly(ester)s ist, dass er ideale Biokompatibilität aufweist, da das Polymer und seine Derivate zu natürlichen Produkten des menschlichen Stoffwechsels abgebaut werden.<sup>34</sup> Durch Esterhydrolyse entstehen 3-Hydroxybutan- und 3-Hydroxypentansäure.



**Abb. 7:** Anwendungsmöglichkeiten für Poly(hydroxyalkanoate).<sup>35</sup>

### **3.3 Produktion von PHAs**

Biologisch abbaubare Polymere werden nicht auf konventionelle Art hergestellt, sondern durch Batch, Semi-Batch und kontinuierliche Fermentationsprozesse.<sup>36</sup> Die Herstellung der PHAs erfolgt biotechnologisch unter kontrollierten Bedingungen in geeigneten Reaktorsystemen. Zuerst findet eine Anzuchtphase der katalytisch aktiven Biomasse statt, auf die eine Produktbildungsphase, initiiert durch Limitierung einer wesentlichen Nährstoffkomponente, folgt.

Um petrochemische Kunststoffe mit umweltfreundlichen Alternativen zu substituieren, müssen diese mit denselben Qualitätsanforderungen wirtschaftlich produziert werden können. Der primäre Vorteil der Bioabbaubarkeit ist für eine erfolgreiche Substitution von kommerziellen Kunststoffen nicht ausreichend.

Die großtechnische Produktion von PHB ist bis heute kostspielig. Das Problem bei der biotechnologischen Herstellung von PHB ist, dass mehr Energie als bei der Erzeugung der meisten konventionellen Kunststoffe aus der Rohölindustrie benötigt wird. Um diese ökonomische Schwachstelle zu überwinden, gilt es, ein System mit möglichst geschlossenen Kreisläufen für den Produktionsprozess zu finden, das die Herstellungskosten minimiert. Die Synthese inklusive der Fermentationsbedingungen sowie die Reinigungsschritte müssen dazu optimiert werden. Weiters müssen „Nischenprodukte“ gefunden werden, in denen bioabbaubare und biokompatible Materialien einen hohen Marktwert mit hoher Wertschätzung erzielen, wie beispielsweise in der Medizin.

Benötigt der Prozess zur Gewinnung bioabbaubarer Materialien und die anschließende Verarbeitung mehr Energie oder nicht-erneuerbare Ressourcen als die konventionellen Materialien, ist der Vorteil der Bioabbaubarkeit kein ausreichendes Argument.

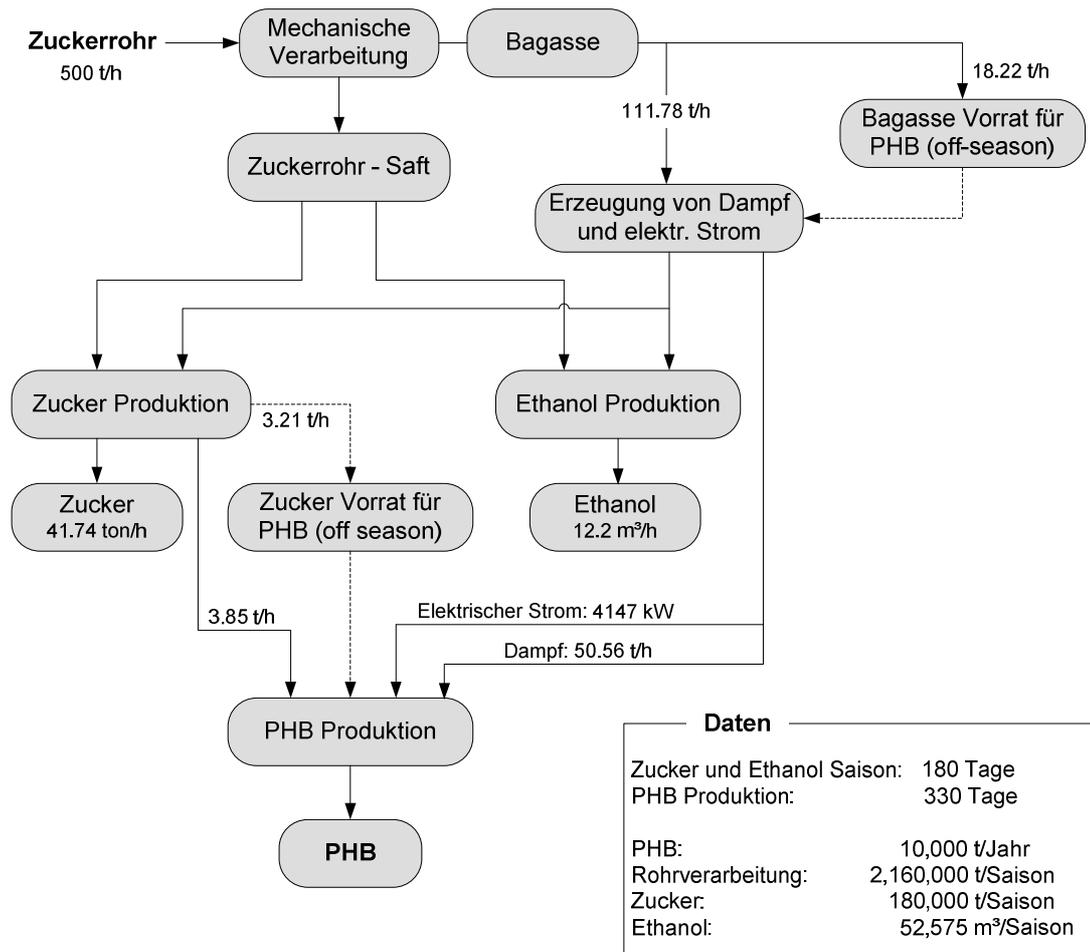
Aufgrund der Ölkrise in den 1970er Jahren wurde vermehrt an bioabbaubaren Polymeren und deren Herstellung geforscht. Unter anderem führte das in Brasilien zu einer Zuckerrohrfabrik mit kombinierten Destillationsanlagen für die effiziente Produktion von Bioethanol als Treibstoff. Die notwendige Energie wird durch Biomasse zur Verfügung gestellt, als Kohlenstoffquelle dienen Zuckerrüben. PHB und verwandte Copolymere können mit geringen Kosten produziert werden, wenn sie in dieses Modell integriert werden.<sup>5</sup>

Diese Zuckerrohrfabriken generieren die thermische, mechanische und elektrische Energie aus der Verwertung der Zuckerrohrbestandteile inklusive deren Neben- und Abfallprodukten. Beispielsweise kann die Bagasse, ein Lignozellulose-Rest, der zu 28% in Zuckerrohr vorkommt und nach der Extraktion des Zuckerrohrsaftes erhalten wird, verbrannt werden und für die Dampferzeugung genutzt werden.

Dieser Dampf kann wiederum in Turbinen die notwendige mechanische und elektrische Energie für die Zuckerfabrik liefern. Somit fällt die Nettobilanz des gesamten Energiekreislaufes positiv aus. Bei dieser so genannten Lebenszyklusanalyse muss auch berücksichtigt werden, dass die bei der Produktion in der Fabrik entstehenden CO<sub>2</sub>-Emissionen durch die Photosynthese der Zuckerrohrpflanzen im Laufe ihrer Biomasseproduktion ausbalanciert werden. Darüber hinaus reduziert der gewonnene Biotreibstoff Ethanol die CO<sub>2</sub>-Emissionen im Vergleich zu herkömmlichen Treibstoffen. Die aus der Fabrik anfallenden Reste haben einen hohen Gehalt an Kalzium, Magnesium und Phosphat und können umweltfreundlich „entsorgt“ werden, indem diese direkt oder nach Kompostierung als Dünger für die Zuckerrohrpflanzen eingesetzt werden.

Diese Besonderheiten in Kombination mit der Herstellung von preiswertem Zucker, der wiederum als Kohlenstoffquelle für die Fermentationsprozesse genutzt werden kann, ermöglichen die Integration großtechnischer, biotechnologischer Anlagen in Zuckerfabriken. PHB kann somit direkt aus Zucker mithilfe natürlich vorkommender Mikroorganismen, ohne petrochemisch hergestellte Substrate, produziert werden. Zucker ist für dieses Modell das billigste und am besten geeignete und verfügbare Substrat.

Dieses Integrationsprojekt führt zu einem geschlossenen Kreislauf, da überschüssige Energie und Abfallprodukte der Zuckerrohrindustrie für den Prozess eingesetzt werden können. Schema 4 zeigt das Massen- und Energiediagramm für Zucker, Ethanol und die Produktion von PHB aus Zuckerrohr.

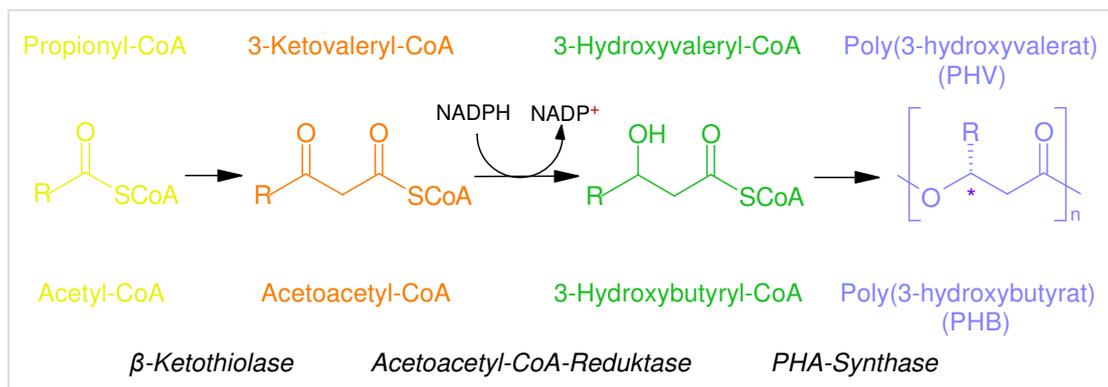


**Schema 4:** Massen- und Energiebilanz für die Produktion von PHB in einer durchschnittlichen Zuckerfabrik.<sup>5</sup>

### 3.4 PHA-Metabolismus

Die Reaktionsabfolge der PHB-Synthese in *C. necator* wurde intensiv untersucht, und ist deshalb eindeutig aufgeklärt. Eine vereinfachte Darstellung ist in Schema 5 zu finden.

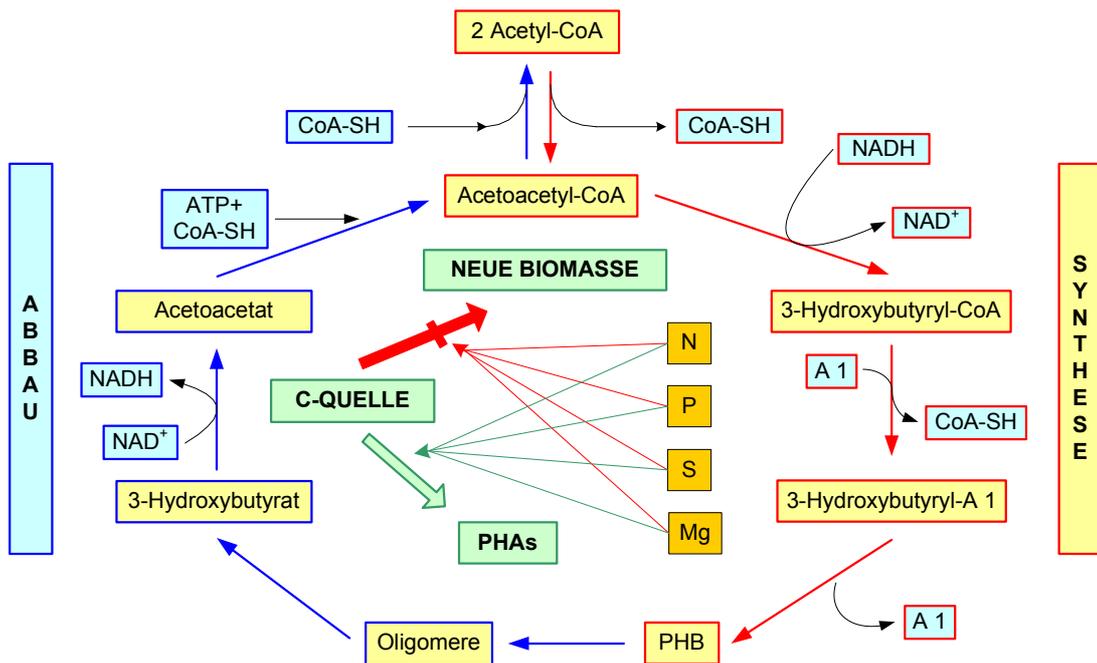
Ausgehend von Acetyl-CoA wird im ersten Schritt, katalysiert durch  $\beta$ -Ketothiolase, das Dimer Acetoacetyl-CoA gebildet. Im Fall von PHV entsteht aus Acetyl-CoA und Propionyl-CoA das Molekül 3-Ketovaleryl-CoA. Acetoacetyl-CoA bzw. 3-Ketovaleryl-CoA werden dann durch die Acetoacetyl-CoA-Reduktase zu 3-Hydroxybutyryl-CoA bzw. 3-Hydroxyvaleryl-CoA reduziert, wobei NADPH in diesem Organismus als Wasserstoffquelle dient. Im letzten Schritt erfolgt die Polymerisation, katalysiert durch eine PHA-Synthase. Das synthetisierte PHB wird dann intrazellulär gespeichert.



**Schema 5:** Anabolismus der PHV-Synthese (*oben*) und der äquivalenten PHB-Synthese (*unten*) in *C. necator*.

Der Nährstoffmangel aktiviert einen metabolischen Weg, der Acetyl-Einheiten vom Tricarboxyl-Kreislauf in die Produktion von PHB verschiebt.<sup>37</sup> Die Reaktionskontrolle erfolgt einerseits über die Konzentration von Acetyl-CoA und andererseits über die Konzentration von NADPH. Die PHA-Synthese ist häufig wirtsspezifisch, weshalb der genaue enzymkatalytische Ablauf noch nicht für alle Organismen aufgeklärt ist.<sup>38</sup>

Der PHA-Metabolismus und seine Makroregulation sind im folgenden Schema 6 dargestellt. Der PHB-Anabolismus, und somit die aufbauenden Phasen im Stoffwechsel des PHBs, sind durch die roten Pfeile gekennzeichnet. Die blauen Pfeile im PHB-Metabolismus symbolisieren den PHB-Katabolismus bis hin zu Acetyl-CoA. Die Limitation der Nährstoffe N, P, S, Mg führt anstatt zu neuer Biomasse zur Produktion von PHAs.



Schema 6: PHA-Metabolismus und seine Makroregulation.<sup>2</sup>

### **3.5 Chemische Modifikation von PHAs**

Bekannte chemische Modifikationen von PHAs beinhalten Grafting-Reaktionen und Graft/Block-Copolymerisationen, Epoxidierung, Vernetzung, Hydroxylierung, Carboxylierung und Chlorierung.<sup>28</sup>

#### **3.5.1 Block/Graft Copolymere von PHAs**

Die Insertion eines zusätzlichen Polymersegmentes in ein bereits bestehendes Polymergerüst, oder als Seitenkette eines existierenden Polymers führt zu Block- bzw. Graft-Copolymeren. Diese Reaktionen sind interessant, um neue polymere Materialien zu erhalten. Die Copolymerisations-Reaktionen können in zwei Teile unterteilt werden: (1) Copolymerisationen, die auf Veresterungen oder Urethan-Bildung basieren, und (2) freie radikalische Graft-Copolymerisationen. Die PHA-Funktionalisierung wird als Derivatisierung durch Epoxidierung, Vernetzung, Carboxylierung, Chlorierung oder Anlagerung von Vinylgruppen betrachtet.<sup>28</sup>

#### **3.5.2 Chlorierung von PHAs**

Die Chlorierung von ungesättigten PHAs kann durch Chloraddition an eine Doppelbindung oder durch Substitutionsreaktionen mit gesättigten Kohlenwasserstoffen durchgeführt werden. Während der Halogenierung kann es zur Hydrolyse des Polymers kommen. Die chlorierten PHA-Derivate können in ihre entsprechenden quartenären Ammoniumsalze, Natriumsulfatsalze und Phenyl-derivate überführt werden. Friedel-Crafts - Reaktionen zwischen Benzol und chlorierten Resten können zu vernetzen Polymeren führen.<sup>28,39</sup>

#### **3.5.3 Die Vernetzung von PHAs**

Netzwerk-Bildung durch Vernetzung führt zu einer einheitlicheren Polymermatrix, die im Allgemeinen die Gesamtheit der chemischen und physikalischen

Eigenschaften der Polymere verbessert. Das Vorhandensein von Doppelbindungen im Molekül erleichtert die Vernetzung bzw. die Reaktionsfähigkeit.<sup>20</sup>

Um die Kristallinität des Copolymers PHB-HV in der vorliegenden Arbeit weiter zu verringern und die mechanischen Eigenschaften zu verbessern, soll ein Vernetzungsschritt zielführend sein.<sup>40</sup>

Poly(3-hydroxyoctanoat-co-3-hydroxyundecenoat), PHOU-Polymerfilme, die Peroxid und multifunktionale Vernetzer enthalten, können thermisch unter Vakuum vernetzt werden. Die Vernetzung von PHOU Filmen kann auch durch Gammastrahlung erfolgen.<sup>41</sup> Die Vernetzung von PHB-HV mit einem freien radikalischen Vernetzer, wie z.B. Dicumylperoxid (Tab. 4), führt zu einer Verzweigung der polymeren Struktur.<sup>28</sup>

Chemische Vernetzung mittels Peroxiden<sup>42,43</sup> oder Schwefel Vulkanisation, sowie physikalische Vernetzung von mcl-PHAs wurden bereits in der Literatur veröffentlicht.<sup>20,44,45</sup> Hazer et al. vernetzten PHAs produziert von *P. oleovorans* aus Sojabohnen-Fettsäuren durch einen freien radikalischen Mechanismus. Die Vernetzung erfolgte thermisch oder durch UV-Belichtung in der Gegenwart von Benzoylperoxid, Benzophenon und/oder Ethylenglykoldimethacrylat.<sup>46</sup> De Koning et al. vernetzten ungesättigte mcl-PHAs im Elektronenstrahl.<sup>40</sup> Das vernetzte Material hatte Eigenschaften eines natürlichen Gummis, war aber trotzdem noch bioabbaubar.

PHA-Filme mit ungesättigten Seitenketten können über einen Radikal-Mechanismus mittels UV-Bestrahlung oder thermisch in der Gegenwart von Peroxid, Benzophenon und/oder Zusatzstoffen vernetzt werden. Die Vernetzungsraten liegen zwischen 81 und 93 Gew.-%, gemäß der Sol-Gel Analyse.<sup>46</sup>

Durch die Bildung von Radikalen kommt es zur Vernetzung, die jedoch auch zu gegenteiligen Kettenbruch-Reaktionen führen können. Durch Zusatzstoffe wie Ethylenglykoldimethacrylat (EGDM) oder Triallylcyanurat können Kettenbruch-Raten im Vergleich zu Vernetzungs-Raten minimiert werden.

Peroxide sind in der Lage gesättigte, und ungesättigte Polymere zu vernetzen, wobei Ungesättigtheit die Effizienz der Peroxide steigert.

Poly( $\beta$ -hydroxyoctanoat) und Poly( $\beta$ -hydroxyoctanoat-co-undecenoat) wurden bereits unter dem Zusatz von Lauroyl-, Benzoyl-, Dicumyl- und 2,5-Dimethyl-2,5-di(t-butylperoxy)hexan (DBPH) vernetzt (Tab. 4).<sup>42</sup>

**Tab. 4:** Chemische Strukturen der verschiedenen Peroxide und Zusatzstoffe.

<b>Peroxide</b>	
Lauroyl	
Benzoyl	
Dicumyl	
2,5-Dimethyl-2,5-di(t-butylperoxy)hexan (DBPH)	
<b>Zusatzstoffe (multifunktionale Vernetzer)</b>	
Ethylenglykoldimethacrylat	
Triallylcyanurat	

Da der Zusatz von chemischen Vernetzungsreagentien zu chemischen Verunreinigungen im vernetzten Polymer führt, bietet Strahlung eine Alternative um Polymere zu vernetzen, wobei es jedoch bei hoch energetischer Strahlung vermehrt zu Abbaureaktionen kommen kann.

Der Effekt der Bestrahlung hängt von der verwendeten Strahlung, der Polymerstruktur, dem Reaktionsmechanismus und den chemischen, physikalischen und mechanischen Eigenschaften der Netzwerk-Bildung ab. UV-Strahlung oder Elektronenstrahl-Quellen besitzen im Vergleich zu Gamma-Strahlung beispielsweise geringere Eindringtiefen. Obwohl Polymere in Gegenwart von ionisierender Strahlung hauptsächlich als vernetzend oder abbauend bezeichnet werden, kommen beide Vorgänge nur selten isoliert vor. Das Ausmaß dieser beiden

Reaktionen hängt von der Strahlungsdosis und der chemischen Zusammensetzung des Materials ab.<sup>20</sup>

Mcl-PHAs mit ungesättigten Seitenketten können durch  $\gamma$ -Strahlung vernetzt werden.

Der Einfluss verschiedener Dosen von Elektronenstrahlen auf den molekularen Abbau sowie auf die Vernetzung von Poly(ethylen) wurden von Aust et al. beschrieben.<sup>47</sup> Es wurde festgestellt, dass das Ausmaß der Vernetzung bzw. des Abbaus abhängig von der absorbierten Strahlungsdosis ist. Die Vernetzungsraten unter Stickstoffatmosphäre sind im Vergleich zu Luft deutlich höher, da es unter Luft vermehrt zu Kettenbruch kommt.

Der Einfluss der Vernetzung von PHB mit Hilfe von Elektronenstrahl auf das Molekulargewicht, das Kristallisationsverhalten, den Schmelzpunkt und die mechanischen Eigenschaften wurden von Bergmann et al. untersucht.<sup>48</sup> Der Schmelzpunkt und das Molekulargewicht nehmen linear mit zunehmender Strahlungsdosis ab. Ursache hierfür sind Abbaureaktionen durch Kettenspaltung, die durch die höhere Bestrahlungsdosis verursacht werden. Im Gegensatz dazu führt eine geringere Dosis, die auf amorphe Proben angewendet wird, zu hohen Vernetzungsraten, die den Abbauprozess verringern. Somit ist die Bestrahlung von geschmolzenem PHB mit Elektronen eine potentiell hilfreiche Technik, um der Versprödung entgegenzuwirken und die Eigenschaften zu stabilisieren.

PHAs mit ungesättigten Gruppen können mit Hilfe photochemischer Reaktionen modifiziert werden, weshalb in weiteren Publikationen die Vernetzung aufgrund zusätzlich eingeführter funktioneller Gruppen, z.B. Doppelbindungen, erfolgt.

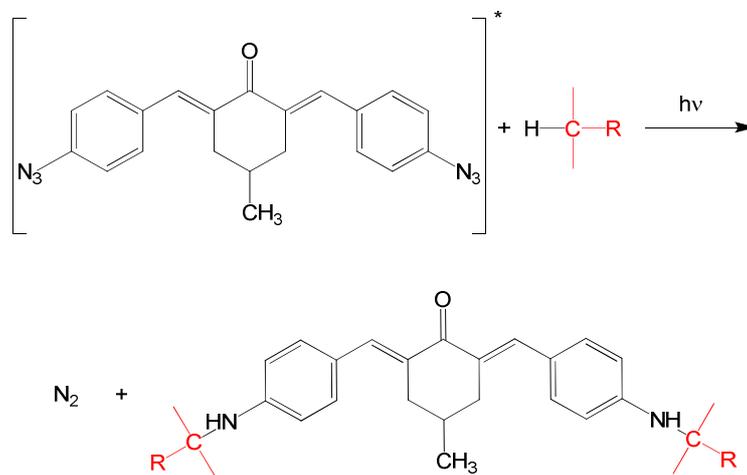
Weiters gibt es Berichte über umweltfreundlichere Materialien und Prozesse in der Photolithographie, die jedoch nicht gänzlich bioabbaubar sind.<sup>44,49,50</sup>

Synthetische Modifikationen die Vernetzung an gesättigten scl-PHAs zeigen, wurden kaum durchgeführt. In dieser Arbeit wurden jedoch scl-PHAs aufgrund ihrer leichten Zugänglichkeit und der einfachen Herstellung aus billigen Kohlenstoffquellen verwendet.

### 3.5.4 Photochemie

Polymere mit entsprechenden funktionellen Gruppen können durch Bestrahlung vernetzt werden. Häufig jedoch ist hochenergetische strahlungsinduzierte Vernetzung weniger effizient, da es vermehrt zu Abbaureaktionen kommt.

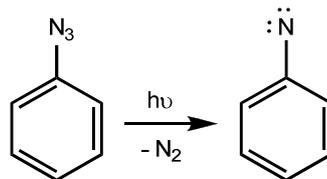
Als Vernetzungs-Reagenz kann Bisazid eingesetzt werden. Aufgrund reaktiver Nitrene, die sich bei der Photolyse bilden, tritt nach der Insertion in die Kohlenwasserstoffbindungen der Polymerkette Netzwerk-Bildung auf (Schema 7). Es entstehen somit Produkte, die zu einer Erhöhung der mittleren Molmasse führen.



**Schema 7:** Vernetzung von Kohlenwasserstoffen durch UV-Bestrahlung in Gegenwart des Photoinitiators und Vernetzungsreagenz 2,6-Bis(4-azidobenzyliden)-4-methylcyclohexanon.

Das Absorptionsspektrum von aliphatischen Azoverbindungen weist ein Maximum im Bereich von 350 bis 380 nm, einen sogenannten  $n\pi^*$  Übergang, mit einem Extinktionskoeffizienten von ungefähr  $150 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  für das E-Isomer auf. Das weniger stabile Isomer absorbiert gewöhnlich bei längeren Wellenlängen, aber die Position und Intensität der Absorptionsbande hängt vom Grad der sterischen Hinderung ab. Aromatische Azo-Verbindungen absorbieren bei längeren Wellenlängen aufgrund der Konjugation der N=N Doppelbindung mit den aromatischen Ringen. Normalerweise werden zwei Banden beobachtet, eine mäßig intensive Absorption in sichtbaren Bereich des Spektrums und eine

intensive im nahen UV-Bereich.<sup>51</sup> Die wichtigste photochemische Reaktion von Azo-Verbindungen ist die Eliminierung von Stickstoff, um Radikale zu erhalten. Bei dem verwendeten Photoinitiator 2,6-Bis(4-azidobenzyliden)-4-methylcyclohexanon handelt es sich um ein Azid, genauer um ein Bisazid. Die Bestrahlung von Aziden führt zur Eliminierung von Stickstoff, was infolgedessen zu den äußerst reaktiven Nitrenen führt (Schema 8). Diese können Reorganisationen, Insertionen oder Additionsreaktionen eingehen.

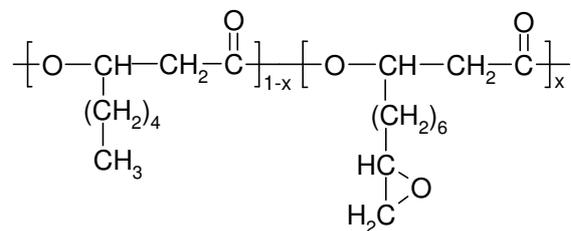


**Schema 8:** Freisetzung von Stickstoff bei Bestrahlung von Azid-Verbindungen.

### 3.5.5 Epoxidierung von ungesättigten PHAs

Mit Hilfe von m-Chlorperoxybenzoesäure können Doppelbindungen in ungesättigten Seitenketten in Epoxidgruppen überführt werden. Es kommt bereits durch Luft zu Vernetzungsreaktionen, jedoch bei einer Reaktionszeit von mehreren Monaten.<sup>52</sup>

Durch die Zugabe von Succinsäureanhydrid und 2-Ethyl-4-methylimidazol als Initiator können die epoxidierten Polymere vernetzt werden. Um Abbaureaktionen und Neuordnungsreaktionen zu vermeiden, wurden milde Bedingungen gewählt.<sup>53</sup>



**Schema 9:** Epoxidierter Poly(ester) PHOU, Poly(hydroxyoctanoat-co-3-hydroxy-10,11-epoxyundecenoat).<sup>53</sup>

### 3.5.6 Hydroxylierung von ungesättigten PHAs

Ungesättigte PHAs können durch chemische Modifikation mit  $\text{KMnO}_4$  in PHAs mit Diol-Gruppen überführt werden. Die modifizierten PHAs weisen erhöhte Hydrophilie auf und sind in polaren Lösungsmitteln löslich.<sup>28</sup>

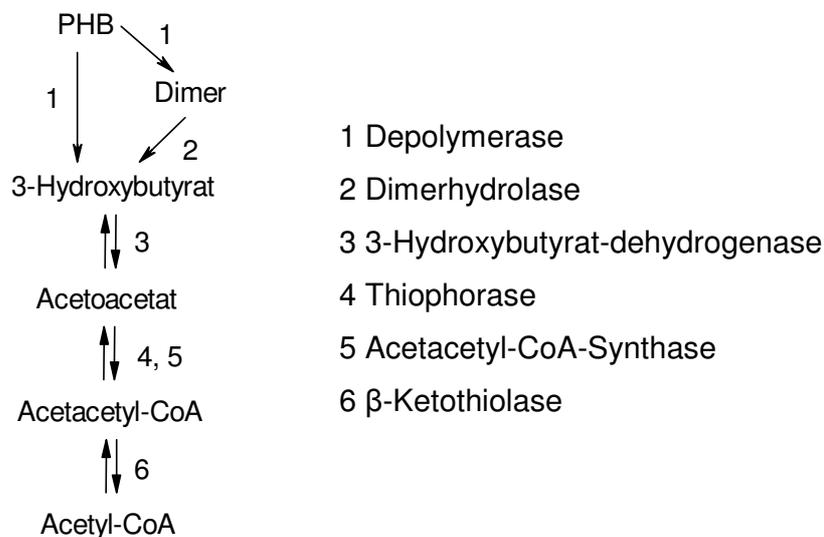
### 3.5.7 Carboxylierung von ungesättigten PHAs

Ähnlich der Hydroxylierung können die ungesättigten Gruppen in PHAs durch Oxidation mit  $\text{KMnO}_4$  in der Gegenwart von  $\text{NaHCO}_3$  in Carboxylgruppen konvertiert werden.<sup>28</sup>

### 3.6 Degradierung von PHAs

Was Biopolymeren einen enormen Vorteil im Vergleich zu konventionellen, petrochemischen Kunststoffen einräumt, ist ihre Bioabbaubarkeit. Eine große Anzahl von Bakterien und Pilzen ist in der Lage, diese Polymere mithilfe von Depolymerasen abzubauen und als Kohlenstoff- und Energiequelle zu nutzen, weshalb diese Biopolymere für die Verwendung von biologisch kompostierbaren Kunststoffen äußerst interessant sind. Im Allgemeinen wird PHB zu Monomeren, Dimeren oder verschiedenen Oligomeren mittels Depolymerasen hydrolysiert. Oligomere werden durch Oligomer-Hydrolasen weiter zu Monomeren hydrolysiert.<sup>3</sup>

In nachstehender Abbildung ist der Abbau von PHB mit den dazugehörigen Enzymen schematisch dargestellt (Schema 10).



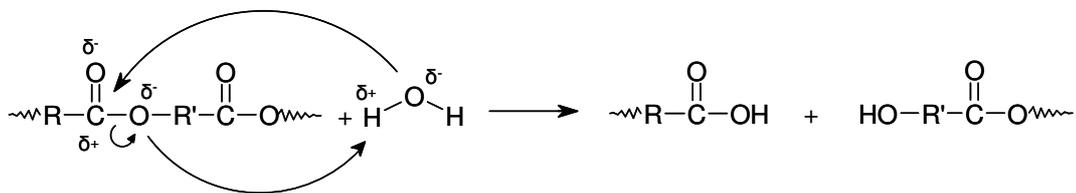
**Schema 10:** Enzymatischer Abbau des Poly(ester)s PHB in mehreren Stufen zu Acetyl-CoA.

Die Endprodukte im biologischen Abbau von PHB sind Crotonsäure, lineare Oligomere mit einer Crotonat-Endgruppe<sup>54</sup> und zyklische Trimere.<sup>32,55,56</sup>

Es gibt verschiedene Mechanismen für die Degradierung von Polymeren. Die mechanisch-, strahlungs- oder thermisch induzierte Degradation erfolgt meist durch die Spaltung kovalenter Bindungen, wodurch es zur Bildung freier Radikale kommt. Diese führen zu einem weiteren Abbau der Polymerketten.

Bei hydrolyseempfindlichen Polymeren wie Poly(ester)n oder Poly(amid)en erfolgt die chemische Degradation in umgekehrten Polykondensationsreaktionen. Hierbei wird die Abbaugeschwindigkeit größtenteils durch die Diffusionsrate von Wasser bestimmt und ist von der ausgesetzten Oberfläche in erster Linie unabhängig. Die hydrolytische Degradation kann durch Säure, Base, Temperatur oder Enzyme beschleunigt werden.

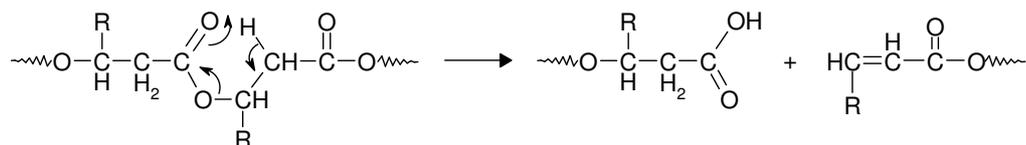
Die hydrolytische Degradation von Esterbindungen erfolgt unter Bildung kleiner Moleküle mit Alkohol- und Säureendgruppen (Schema 11).<sup>29</sup>



**Schema 11:** Hydrolytische Esterspaltung unter Bildung von Alkohol- und Säuregruppen.<sup>29</sup>

Der enzymatische Abbau, der bei Poly(hydroxyalkanoat)en für die umweltfreundliche Alternative zu petrochemischen Kunststoffen sorgt, findet an enzymespezifischen Gruppen statt. Je nach Enzym kann die Degradation oxidativ, hydrolytisch oder durch direkte Kettenspaltung erfolgen. Die Kinetik der enzymatischen Degradation wird durch die zugängliche Oberfläche kontrolliert, da Enzyme aufgrund ihres Molekulargewichts, im Gegensatz zur hydrolytischen Degradation durch Wasser, nicht in das Polymer diffundieren können.

Der thermische Abbau von PHB erfolgt über einen Übergangszustand mit einem sechsgliedrigen Ring, ausschließlich mit nicht-radikalischem Kettenbruch (cis-Eliminierung) (Schema 12).<sup>57</sup>



**Schema 12:** Thermischer Abbau von PHB.

### 3.7 Charlesby-Pinner-Analyse

Charlesby und Pinner leiteten 1959 für Systeme, in denen die Wahrscheinlichkeit von Vernetzung und Kettenbruch für alle Einheiten unabhängig voneinander und konstant ist, folgende Gleichung her:

$$s + \sqrt{s} = \frac{p}{q} + \frac{1}{P_n^0 \cdot q} \quad \text{Gleichung (1)}$$

wobei  $s$  die lösliche Fraktion des Polymers,  $P_n^0$  der mittlere Polymerisationsgrad,  $q$  die Vernetzungsdichte (die relative Zahl der vernetzten Monomereinheiten zu allen Monomereinheiten) und  $p$  die Bruchdichte ist.

Angenommen, beide Prozesse besitzen eine konstante Rate, wird ausgehend von Gleichung (1) folgende Form gültig:

$$s + \sqrt{s} = \frac{v_p}{v_q} + \frac{1}{v_q \cdot P_n^0} \cdot \frac{1}{t} \quad \text{Gleichung (2)}$$

Werden die experimentell erhaltenen Werte  $(s + \sqrt{s})$  also als Funktion der reziproken Abbaupzeit  $(1/t)$  aufgetragen, ergibt sich eine lineare Korrelation, die sogenannte *Charlesby-Pinner* Auftragung.

Dem Berechnungsmodell entsprechend, ist die Linearität der Charlesby-Pinner Auftragungen nicht allzu empfindlich für Änderungen der Vernetzungs- ( $v_q$ ) oder Bruchraten ( $v_p$ ). Folglich sagt die erhaltene Linearität nicht notwendigerweise aus, dass  $v_q$  und  $v_p$  absolut konstant sind.<sup>58,59</sup>

### 3.8 Polymerverarbeitung

Die Eigenschaft thermoplastischer Kunststoffe, unter Druck und Wärme verformbar zu sein, ermöglicht die großtechnische Formgebung im Extruder. Das physikalische Verhalten der Polymere wird in idealer Weise in diesem Prozess genutzt, indem durch Erwärmen des Kunststoffes, anschließender Formgebung der Schmelze und nachfolgender Abkühlung in einem Werkzeug verwendungsfertige Formteile hergestellt werden können.

Beim Extrudieren (lateinisch: extrudere = hinausstossen) wird mittels einer Schnecke oder Doppelschnecke plastifiziertes Material kontinuierlich aus dem Extruder durch eine Loch- oder Filterplatte hinausbefördert. Typische Anwendungsbereiche sind Rohre, Platten, Folien oder Kabel.

Das Kunststoffgranulat wird in die Spritzgussmaschine eingefüllt und durch eine im Zylinder befindliche rotierende Schnecke eingezogen. Die Plastifizierung des Kunststoffes erfolgt beim Durchlauf durch die verschiedenen Zonen, indem die Masse aufgeschmolzen und gut durchmischt wird, wobei das Granulat nicht nur durch die Reibungswärme der rotierenden Schnecke, sondern auch durch Heizelemente aufgeheizt wird.



**Abb. 8:** Thermo Scientific Micro-Compounder HAAKE MiniLab.<sup>60</sup>

Die Extrusionsversuche im Rahmen dieser Arbeit wurden mit Hilfe eines Thermo Scientific Micro-Compounder HAAKE MiniLab (Abb. 8) durchgeführt, der auf der konischen Doppelschnecken-Technologie mit gleichlaufenden Schnecken basiert.

Doppelschneckenextruder bieten im Gegensatz zu Einschneckenextrudern den Vorteil, dass Zusätze leichter eincompoundiert werden können, da aufgrund der hohen Scherarbeit gute Dispergierung und Homogenisierung erfolgen.<sup>29</sup>

Die Füllung erfolgt pneumatisch, zur Homogenisierung der Probe wird das Material über ein integriertes Bypass-Ventil zirkuliert.<sup>61</sup> Das Gerät wurde zum Plastifizieren der Polymermasse und der anschließenden Befüllung des Masse-reservoirs für die Spritzgussversuche verwendet.

Das Spritzgießen von Kunststoffen ist ein diskontinuierliches Gießverfahren. Die Formmasse wird mit Hilfe einer rotierenden Schnecke plastifiziert, gefördert und in ein formgebendes Hohlteil (Werkzeug) eingespritzt. Dort wird es verdichtet, abgekühlt und als Formteil aus dem Werkzeug entnommen.

Im Unterschied zum Extrudieren findet ein diskontinuierliches Einspritzen einer definierten Menge der Kunststoffmasse in den Hohlraum eines Formwerkzeuges statt. Die Plastifizierung der Formmasse erfolgt beim Spritzgießen gewöhnlich in einem beheizten Zylinder mit rotierender Schnecke.<sup>62</sup> Der Spritzguss ist besonders zur wirtschaftlichen Fertigung von Formteilen besonders in großen Stückzahlen geeignet.

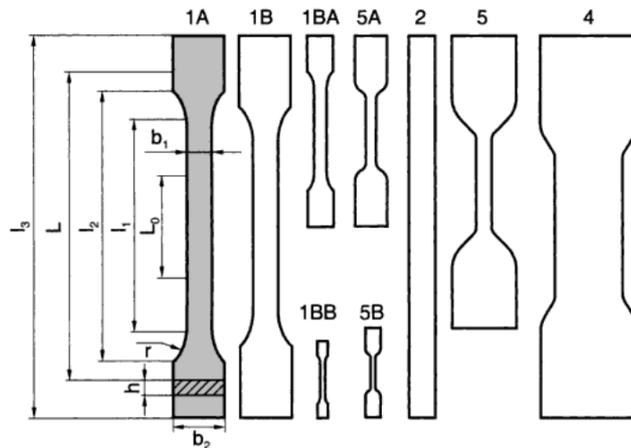
Die Formgebung der im Doppelschnecken-Extruder aufgeschmolzenen Polymermasse erfolgte mit Hilfe einer Kolbenspritzgießmaschine (Abb. 9) von DSM Xplore.



**Abb. 9:** Links: Verwendete Kolbenspritzgießmaschine von DSM Xplore.<sup>63</sup> Rechts: Ausschnitt der Kolbenspritzgießmaschine DSM Xplore.<sup>64</sup>

### 3.8.1 Herstellung von Prüfkörpern

Für den Einsatz von Kunststoffen in der Praxis sind die physikalischen Eigenschaften von großer Bedeutung. Um diese mittels mechanischer, thermischer oder elektrischer Kenngrößen zu charakterisieren, sind gemäß den entsprechenden Normen genau definierte Prüfkörpergeometrien und -abmessungen notwendig.



**Abb. 10:** Prüfkörper für den Zugversuch an Kunststoffen nach DIN EN ISO 527.<sup>65</sup>

Um ausreichende Klemmbedingungen zu gewährleisten, wurden Schulterstäbe (Abb. 10 und Abb. 11) verwendet. Die Bestimmung der Zugeigenschaften von Kunststoffen erfolgte nach DIN EN ISO 527.<sup>66,67</sup>



**Abb. 11:** Spritzgegossene Formkörper und offene Form (*links*); spritzgegossene Schulterprüfkörper für den Zugversuch (*rechts*).

Im Zuge der Herstellung kommt es zu Deformationen, die durch Scherung während des Einspritzvorganges, Dehnung und Verstreckung von Makromolekülen sowie Abkühlungs- und Erstarrungsvorgänge im Werkzeug entstehen.

Weiters kommt es zu einer verarbeitungstechnisch bedingten Volumenkontraktion beim Übergang vom schmelzflüssigen in den festen Zustand, die durch den Abkühlungsvorgang bedingt ist.

Für die nachfolgende Zugbeanspruchung, sollen die hergestellten Prüfkörper homogen in Bezug auf die Verteilung morphologischer Strukturelemente, makroskopisch isotrop und ohne Eigenspannungen sein. In realen Bauteilen ist dieser Zustand, wenn überhaupt, nur näherungsweise zu erreichen.<sup>68,69</sup>

### 3.9 Mechanische Polymercharakterisierung

Der Zugversuch gilt als quasistatisches Prüfverfahren, bei dem der Bruch des zu prüfenden Körpers oder eine definierte Beanspruchungsgrenze (Kraft oder Dehnung) in einer geeigneten Zeitspanne erreicht werden. Die Belastung muss langsam und stoßfrei sein; die Lastzunahme muss stetig ansteigend bis zum Bruch erfolgen. Die daraus resultierende Verlängerung  $\Delta L = L - L_0$  des Prüfkörpers wird auf die Ausgangslänge  $L_0$  bezogen und als Dehnung  $\varepsilon$  bezeichnet:<sup>70</sup>

$$\varepsilon = \frac{\Delta L}{L_0} 100\% \quad \text{Gleichung (3)}$$

Gemäß DIN EN ISO 527 können folgende Kennwerte aus dem Spannungs-Dehnungs-Diagramm ermittelt werden:

Die **Zugfestigkeit**  $\sigma_M$  entspricht der auf die Anfangsquerschnittsfläche bezogenen maximalen Kraft, die auf den Prüfkörper während des Zugversuchs wirkt:

$$\sigma_M = \frac{F_{\max}}{A_0} \quad \text{Gleichung (4)}$$

Die **Dehnung**  $\varepsilon_M$  ist die zur Zugfestigkeit  $\sigma_M$  zugehörige Dehnung.

$$\varepsilon_M = \frac{\Delta L_{0M}}{L_0} 100\% \quad \text{Gleichung (5)}$$

Die **Bruchspannung**  $\sigma_B$  gibt die Spannung an, die beim Bruch des Prüfkörpers auftritt.

$$\sigma_B = \frac{F_B}{A_0} \quad \text{Gleichung (6)}$$

Die **Bruchdehnung**  $\varepsilon_B$  ist die zur Bruchspannung zugehörige Dehnung.

$$\varepsilon_B = \frac{\Delta L_{0B}}{L_0} 100\% \quad \text{Gleichung (7)}$$

Bruchdehnung und Zugfestigkeit sind zueinander reziprok, da Prüfkörper mit der niedrigsten Bruchdehnung die höchste Zugfestigkeit aufweisen.<sup>68</sup>

Der E-Modul (Elastizitäts-Modul) von Kunststoffen ist bei uniaxialer Beanspruchung die Proportionalitätskonstante im HOOKE'schen Gesetz, das den linearen Zusammenhang zwischen Spannung  $\sigma$  und Dehnung  $\varepsilon$  beschreibt:

$$\sigma = E \cdot \varepsilon \quad \text{Gleichung (8)}$$

Der E-Modul wird im elastischen und linear-viskoelastischen Deformationsbereich von 0,05% bis 0,25% des Spannungs-Dehnungs-Diagramms ermittelt.

$$E = \frac{\sigma_2 - \sigma_1}{\varepsilon_2 - \varepsilon_1} = \frac{F_2 - F_1}{0,002A_0} \quad \text{Gleichung (9)}$$

## 4 Ergebnisse und Diskussion

Poly(hydroxyalkanoat)e PHAs werden als intrazellulärer Energie- und Kohlenstoffspeicher in Form von Polymeren in Bakterien akkumuliert, induziert durch ein Überangebot an Kohlenstoff bei gleichzeitigem Nährstoffmangel wie Phosphat oder Stickstoff.<sup>71</sup>

Poly(3-hydroxybutyrat) PHB, ein linearer, bioabbaubarer und kristalliner Poly(ester), stammt aus der Gruppe der PHAs und ist ein Homopolymer aus 3-Hydroxybutyrat. Seit der ersten Isolierung und Charakterisierung im Jahre 1926 wurde dieses Biopolymer intensiv erforscht.

Der unter dem Handelsnamen Biopol bekannte Copoly(ester) bestehend aus Hydroxybutyrat und Hydroxyvalerat (PHB-HV) fand erste kommerzielle Anwendung in Form von Verpackungsmaterial für Shampooflaschen. Aufgrund der biologischen Abbaubarkeit der Biopolymere werden sie als umweltschonende Alternative zu den herkömmlichen, petrochemisch hergestellten Kunststoffen gesehen.

### 4.1 Polymeranaloge Reaktionen

Um das verwendete Material PHB-HV zu modifizieren, beispielsweise um den thermischen Abbau und somit den Kettenbruch bei der Prozessierung bei Temperaturen oberhalb des Schmelzpunktes präventiv entgegenzusteuern, wurden verschiedene Ansätze gewählt.

Unser Ziel war, eine Vernetzung in signifikantem Ausmaß zu erreichen, bei der das Polymer bis zur Unlöslichkeit vernetzt ist. Die Funktionalisierung bzw. Vernetzung der scl-PHAs erwies sich als äußerst schwierig bzw. nicht erfolgreich (Kapitel 4.1); jedoch sind scl-PHAs mit gesättigten Seitenketten für ihre chemische Reaktionsträgheit bekannt. Aufgrund dieser Tatsache war es äußerst erstaunlich, dass die photochemische Vernetzung unter Zusatz eines Photoinitiators zur erfolgreichen Netzwerkbildung bei Raumtemperatur mit hoher Reproduzierbarkeit führte (Kapitel 4.2).

### 4.1.1 Thermische Vernetzung

Nachdem sich das Molekulargewicht der scl-PHAs beim Spritzguss verringert (Abb. 2), war ein Lösungsansatz, das Polymer im Extruder selbst thermisch zu vernetzen.

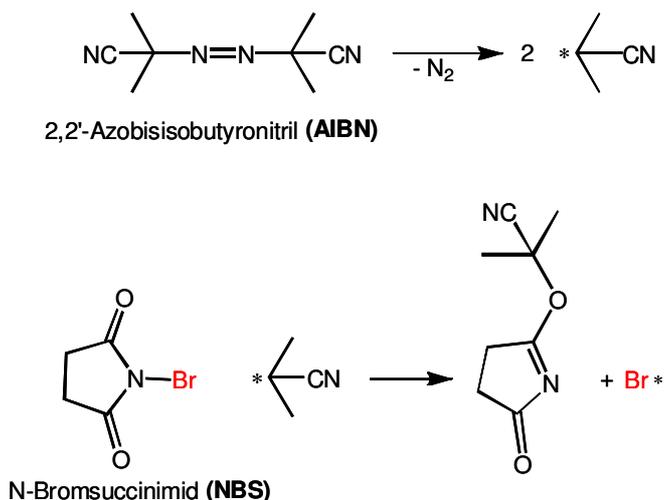
Für die Vorversuche dazu wurde die PHB-Photoinitiator-Lösung auf CaF<sub>2</sub>-Plättchen mittels Spincoating aufgebracht. Anschließend wurden die beschichteten Substrate unterschiedlich lange bei 165 °C im Trockenschrank gelagert, um die thermische Vernetzung zu initiieren, und anschließend in Dichlormethan zu entwickeln. Durch den Vergleich der Ester-Peakhöhen bei 1724 cm<sup>-1</sup> (Kapitel 4.2, Gleichung (10)) aus den IR-Spektren konnte der Anteil der unlöslichen Fraktion berechnet werden. Die Auswertung der Ergebnisse zeigte keinen eindeutigen Trend, was auf eine geringe Reproduzierbarkeit zurückzuführen ist. Die eingestellte Temperatur von 165 °C im Trockenschrank impliziert nicht, dass die Plättchen bei kurzen Lagerungszeiten bereits diese Temperatur erreicht haben. Das bedeutet, dass die Wärmeleitfähigkeit der CaF<sub>2</sub>-Plättchen Ursache für die geringe Reproduzierbarkeit sein kann.

### 4.1.2 Halogenierung

Um das Biopolymer PHB-HV zu funktionalisieren, wurde eine Bromierungsreaktion durchgeführt. Das Brom als funktionelle Gruppe im Polymer sollte in nachfolgenden Schritten eine Quervernetzung ermöglichen.

PHB-HV wurde mit N-Bromsuccinimid (NBS) und Azobisisobutyronitril (AIBN) als Initiator in CCl<sub>4</sub> unter Rückflussbedingungen umgesetzt. Hierbei handelt es sich um eine Radikalkettenreaktion, bei der molekulares Brom, das in geringer Konzentration aus dem NBS gebildet wird, als bromierendes Agens wirkt.<sup>72</sup>

Zur Aufarbeitung wurden die Polymere in Ethanol gefällt, filtriert und getrocknet.



**Schema 13:** Reaktionsgleichung der Generierung radikalischer Spezies in der radikalischen Bromierung mit AIBN und NBS.

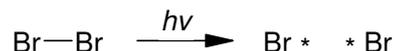
Da das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des erhaltenen Materials keine Verschiebungen im Vergleich zu reinem PHB-HV aufzeigte, konnte man daraus schließen, dass der Versuch nicht zu dem gewünschten Ergebnis der Bromierung führte.

Da das Polymer in  $\text{CCl}_4$  unlöslich war, wurde derselbe Versuch in  $\text{CHCl}_3$  wiederholt. Mit  $\text{CHCl}_3$  als Lösemittel wurde eine klare Lösung von PHB-HV erreicht, jedoch ist  $\text{CHCl}_3$  aufgrund des Wasserstoffs für die Reaktion im Vergleich zu  $\text{CCl}_4$  weniger geeignet, da  $\text{Br}^*$  den Wasserstoff abstrahieren kann. Wiederum wurde nicht die Funktionalisierung des Polymers mit Brom erreicht.

### 4.1.3 Photobromierung

Nachdem die radikalische Substitution mit NBS und AIBN weder in  $\text{CCl}_4$  noch in  $\text{CHCl}_3$  zur Funktionalisierung des Polymers mit Brom führte, wurde die Umsetzung mit elementarem Brom durchgeführt.

Dazu wurde PHB-HV in  $\text{CCl}_4$  suspendiert und elementares Brom unter Bestrahlung mit einer 150 Watt Photolampe zugetropft (Schema 14). Bei der als Homolyse bezeichneten „symmetrischen“ Bindungsspaltung, muss dem Molekül die Bindungsdissoziationsenergie zugeführt werden. Dies kann prinzipiell in Form von Wärmeenergie (Thermolyse), Strahlungsenergie (Photolyse, Radiolyse), chemischer Energie (Redoxprozesse) oder durch mechanische Energie erfolgen.<sup>72</sup>



**Schema 14:** Strahlungsinduzierte, homolytische Bromspaltung (Photolyse).

Nach der Aufarbeitung wurde ein  $^1\text{H-NMR}$  gemessen, das zeigte, dass die Bromierung nicht erfolgreich war, da keine Verschiebungen im Spektrum im Vergleich zum Ausgangspolymer auftraten. Eine Ursache für die nicht erfolgreiche Funktionalisierung könnte sein, dass die 150 Watt Lampe zu wenig Leistung für die Spaltung des Moleküls hatte und die erforderliche molare Standardbindungsdissoziationsenthalpie von  $\text{Br}_2$  ( $190 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  bei  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ )<sup>72</sup> nicht zugeführt wurde.

#### 4.1.4 Vernetzung mit Dicumylperoxid

Laut Literatur wurde PHB-HV mit Dicumylperoxid DCP bereits vernetzt (Tab. 4).<sup>73</sup> Um diesen Versuch zu wiederholen, wurde PHB-HV mit 1 Gew.-% DCP vermischt und im Ofen bei  $170 \text{ }^\circ\text{C}$  gelagert, um das Polymer thermisch zu vernetzen.

Ausgehend von der Annahme, dass die unlöslichen Fraktionen aus vernetzten Gelen bestehen, wies das erhaltene Material aufgrund der Löslichkeit keine Vernetzung in signifikantem Ausmaß auf.

#### 4.1.5 Hydrolyse in der Mikrowelle

Ein weiterer Ansatz zur Vernetzung von PHB-HV war, das Polymer zu hydrolysieren, um es anschließend mit einer oligofunktionalen Vinylverbindung zu vernetzen. Dazu wurde PHB-HV mit 6 M HCl in der Mikrowelle bei  $180 \text{ }^\circ\text{C}$  für 1 h, 2 h, bzw. 5,5 h hydrolysiert. Es wurde jeweils eine klare, gelbliche Flüssigkeit erhalten, die anschließend mit Weinsäure vernetzt werden sollte.

Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigte, dass das Polymer PHB-HV durch Esterspaltung zu Oligomeren hydrolysiert wurde (Abb. 12).

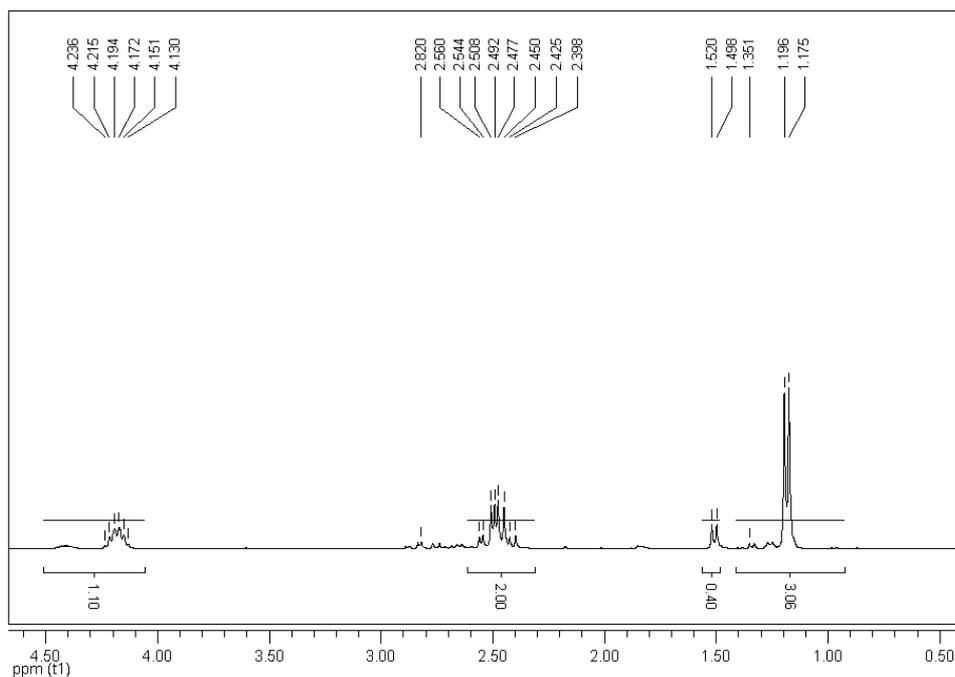
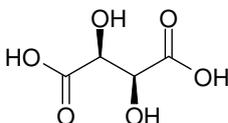


Abb. 12:  $^1\text{H-NMR}$  des hydrolysierten PHB-HVs.

#### 4.1.6 Vernetzung mit Weinsäure

Hydrolysiertes PHB-HV (4.1.5) wurde mit 10 Gew.-% Weinsäure (Schema 15) versetzt und bei 160 °C für 1 h im Ofen gelagert, um es zu vernetzen. Da das erhaltene Material noch löslich war, erfolgte keine Vernetzung in signifikantem Ausmaß.

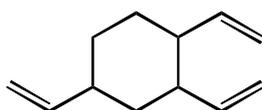
Auch der analoge Versuch, hydrolysiertes PHB-HV mit 10 Gew.-% Weinsäure für 1 h im Vakuumschrank bei 140 °C zu lagern, zeigte keine erfolgreiche Vernetzung. Die Motivation für dieses Experiment war, das Wasser als Kondensationsprodukt im Vakuum zu entfernen, um das Gleichgewicht in Richtung Vernetzung zu verlagern. An der Löslichkeit des erhaltenen Materials konnte erkannt werden, dass die gewünschte Vernetzung bis zur Unlöslichkeit nicht erfolgt war.



Schema 15: Weinsäure, 2,3-Dihydroxybutandisäure.

### 4.1.7 Vernetzung mit TVC

PHB-HV wurde mit 1,2,4-Trivinylcyclohexan (über Molsieb getrocknet) in  $\text{CHCl}_3$  unter Rückflussbedingungen in trockenem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  umgesetzt (Schema 16) und der Reaktionsverlauf mit  $^1\text{H-NMR}$  verfolgt.



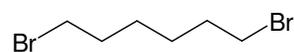
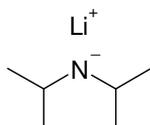
**Schema 16:** 1,2,4-Trivinylcyclohexan.

Das nach der Aufarbeitung erhaltene Material konnte im  $^1\text{H-NMR}$  nur als das Ausgangsmaterial PHB-HV charakterisiert werden, da die  $^1\text{H}$ -Signale des Trivinyls nicht im Spektrum zu sehen waren. Daraus kann man schließen, dass die Vernetzung mit 1,2,4-Trivinylcyclohexan nicht erfolgte, was auch die Löslichkeit des Produkts erklärt.

### 4.1.8 Reaktion mit LDA

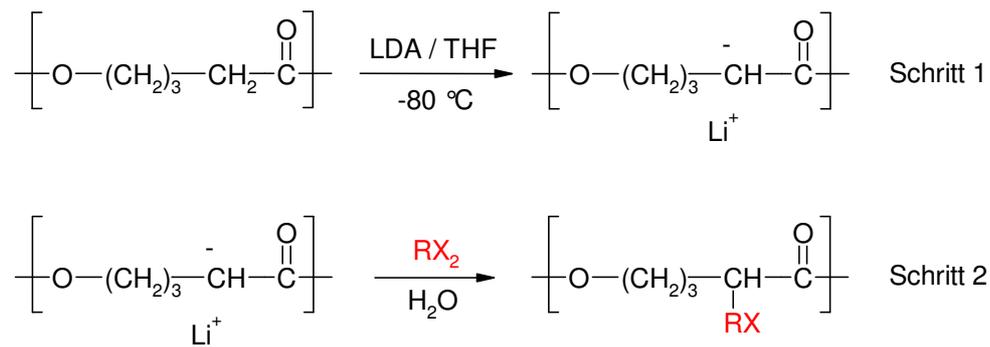
1 g PHB-HV wurde in THF unter Argonatmosphäre dispergiert. Das Reaktionsgemisch wurde mit Aceton / Trockeneis auf  $-78^\circ\text{C}$  gekühlt.

Es wurde 1 Äquivalent Lithiumdiisopropylamid LDA (2 mol/L) zugegeben, nach 30 min wurde 1 Äquivalent 1,6-Dibromhexan zugegeben (Schema 17). Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und aufgearbeitet.



**Schema 17:** Chemische Struktur von Lithiumdiisopropylamid LDA (links) und 1,6-Dibromhexan (rechts).

Die anionische Aktivierung mit der starken Base LDA ermöglicht die Substitution mit einem Alkylhalogenid wie in Schema 18 gezeigt.



**Schema 18:** Mögliche anionische Aktivierung mittels LDA (Schritt 1) und Substitution durch RX (Schritt 2), gezeigt am Beispiel von Poly(caprolacton) PCL.

Das erhaltene Material war nach der Aufarbeitung noch löslich, was auf keine oder stark unvollständige Vernetzung schließen lässt. Ursache hierfür könnte die Zugabe von 1 anstatt 0,5 Äquivalent(en) 1,6-Dibromhexan sein, da das bifunktionale Alkylhalogenid für eine Quervernetzung des Polymers nur in der halben Menge des LDAs eingesetzt werden sollte.

## **4.2 Sol-Gel Analyse der photochemischen Vernetzung**

Nachdem die Modifikationsreaktionen in Kapitel 4.1 nicht zu einer Vernetzung in signifikantem Ausmaß bis zur Unlöslichkeit führten, kann man scl-PHAs mit nicht-funktionalisierten Seitenketten als chemisch inert ansehen. Die Tatsache, dass sie von Bakterien als Speicherstoffe gebildet werden, erklärt ihre chemische Reaktionsträgheit. Diesen Rahmenbedingungen zum Trotz gelang es in der vorgelegten Arbeit, scl-PHAs photochemisch in dünnen Filmen mit hoher Reproduzierbarkeit zu vernetzen.

Im Zuge der gewünschten photochemischen Vernetzung der Polymere wurde ein Bisazid-System als Photoinitiator und Vernetzungsreagenz ausgewählt. Durch Belichtung des Reaktionsgemischs mit UV-Strahlung wurde die Vernetzung in den Polymerfilmen durch Insertion reaktiver Nitrene in die Kohlenwasserstoffketten erreicht. Untersucht wurden hierbei der erforderliche bzw. optimale Gehalt an Photoinitiator und die zweckmäßige Belichtungszeit, um möglichst hohe Vernetzungsraten zu erzielen. Ein weiteres Kriterium war die Analyse, ob die Radikale mehr Kettenbruch als Vernetzung verursachen.

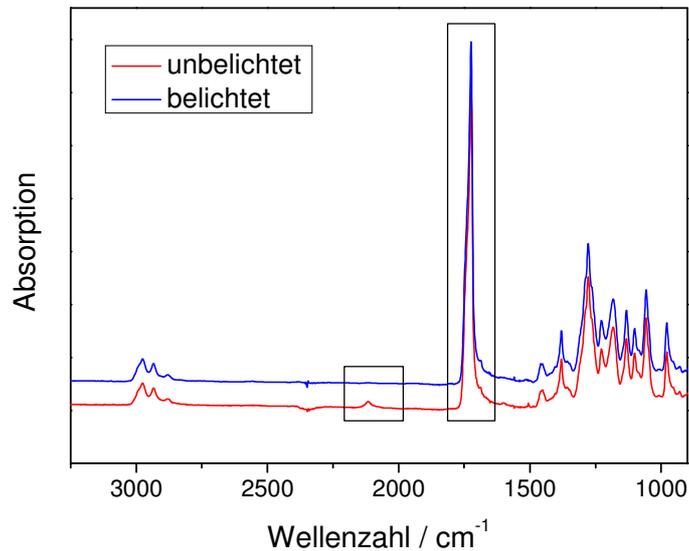
Die Aktivierung des Bisazides in den auf CaF<sub>2</sub>-Plättchen befindlichen PHB-HV-Filmen konnte im FTIR-Spektrum beobachtet werden, indem vor und nach der Belichtung ein Spektrum aufgenommen wurde. Der von der Azid-Gruppe stammende Peak bei 2118 cm<sup>-1</sup> verschwand je nach Dauer der UV-Bestrahlung ganz bzw. wurde merklich kleiner.

Die Bestimmung des vernetzten bzw. unlöslichen Teils des Polymers wurde durch Vergleich der Ester-Peakhöhen bei 1724 cm<sup>-1</sup> im FTIR-Spektrum nach der UV-Bestrahlung mit der Peakhöhe nach der Entwicklung durchgeführt.

Zur Berechnung der Gelfraktion (%) wurde folgende Gleichung verwendet:

$$\text{Gelfraktion}[\%] = \frac{\text{pht}_1}{\text{pht}_0} \times 100 \quad \text{Gleichung (10)}$$

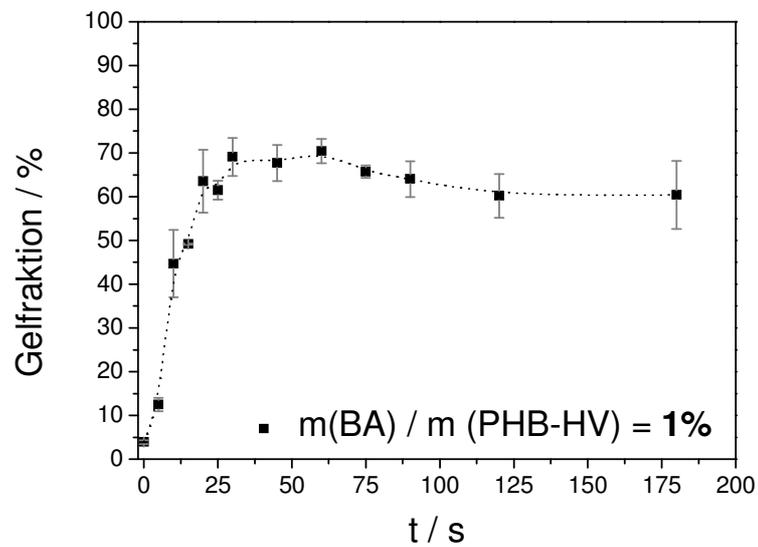
wobei  $pht_0$  die Peakhöhe der Esterbande nach der Belichtung und  $pht_1$  die Peakhöhe nach dem Entwicklungsschritt ist (Abb. 13). Die Ergebnisse der FTIR-Analyse wurden gravimetrisch validiert.



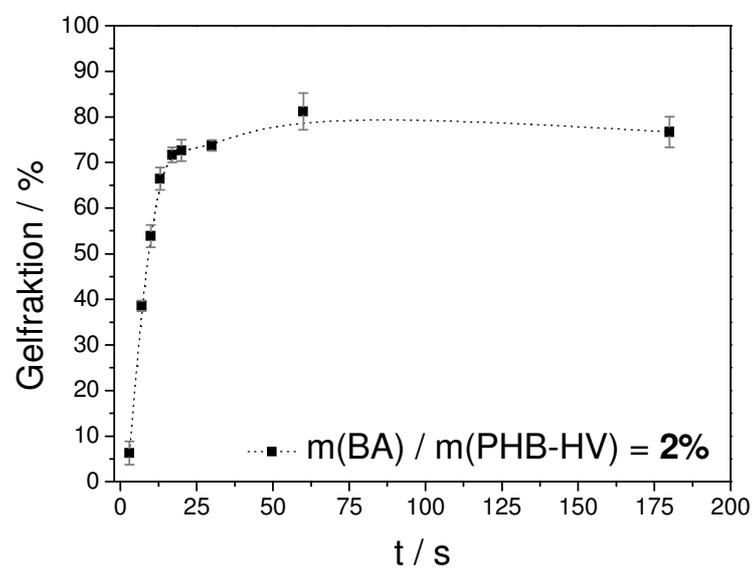
**Abb. 13:** Vergleich der FTIR-Spektren einer unbelichteten und belichteten Probe.

Die Polymerlösungen wurden mit je 1, 2, 3, 4 und 5 Gew.-% Photoinitiator versetzt und mittels Spincoating auf CaF<sub>2</sub>-Plättchen aufgebracht. Nach den jeweiligen Belichtungszeiten wurde ein IR-Spektrum der Plättchen aufgenommen, die anschließend in Dichlormethan entwickelt wurden. Nach dem Trocknen wurden erneut FTIR-Spektren gemessen.

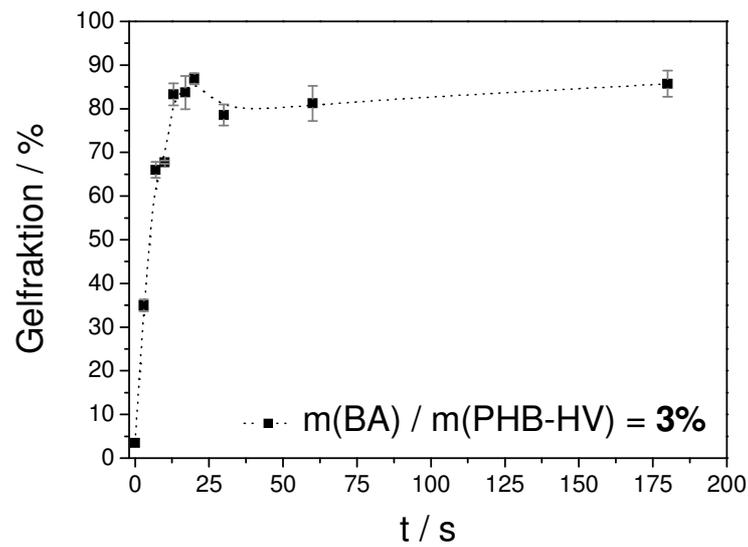
In den folgenden Abbildungen (Abb. 14 bis Abb. 18) sind die unlöslichen Gelfractionen der photochemisch vernetzten PHB-HV-Filme mit unterschiedlichem Gehalt an Photoinitiator gegen die UV-Belichtungszeit aufgetragen. Die Gelfractionen der belichteten Filme wurde wie oben -in Gleichung (10)-beschrieben, ausgewertet.



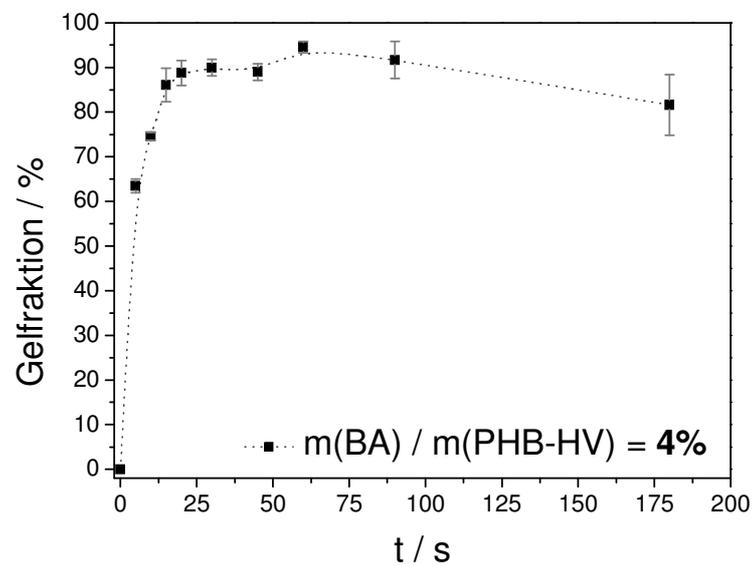
**Abb. 14:** PHB-HV Photovernetzung mit 1 Gew.-% Bisazid. Die unlösliche Fraktion ist als Funktion der Bestrahlungsdauer aufgetragen.



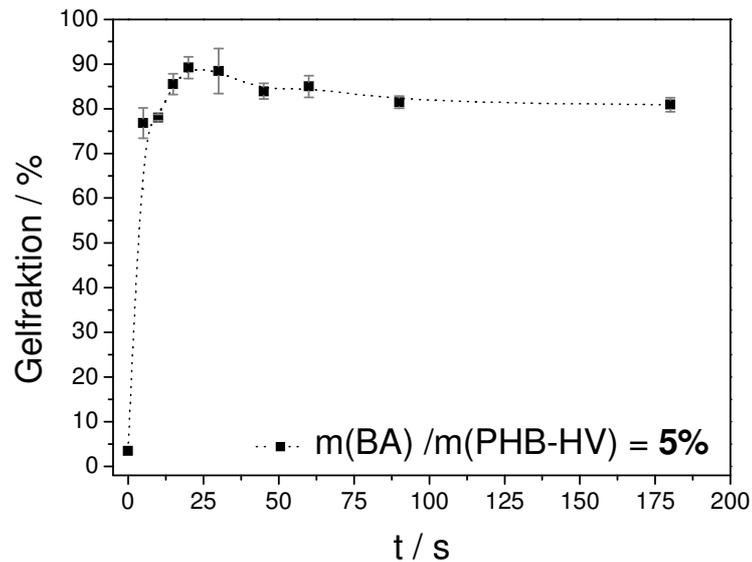
**Abb. 15:** PHB-HV Photovernetzung mit 2 Gew.-% Bisazid. Die unlösliche Fraktion ist als Funktion der Bestrahlungsdauer aufgetragen.



**Abb. 16:** PHB-HV Photovernetzung mit 3 Gew.-% Bisazid. Die unlösliche Fraktion ist als Funktion der Bestrahlungsdauer aufgetragen.



**Abb. 17:** PHB-HV Photovernetzung mit 4 Gew.-% Bisazid. Die unlösliche Fraktion ist als Funktion der Bestrahlungsdauer aufgetragen.



**Abb. 18:** PHB-HV Photovernetzung mit 5 Gew.-% Bisazid. Die unlösliche Fraktion ist als Funktion der Bestrahlungsdauer aufgetragen.

Mit einem Anteil von 1 Gew.-% Bisazid (Abb. 14) wird nach einer Bestrahlungsdauer von ca. 30 s ein Höchstwert der Gel-Fraktion mit 70% erreicht. Nach einem steilen Anstieg in diesen 30 s wird das Maximum erreicht, wobei sich bei weiterer Bestrahlung ein Plateau einstellt. Wird jedoch länger als ca. 60 s belichtet, nimmt der Anteil der Gel-Fraktion ab, das Polymer wird abgebaut. Dieses grundsätzliche Verhalten zeigt sich bei allen durchgeführten Experimenten mit unterschiedlichen Bisazid-Konzentrationen (Abb. 14 bis Abb. 18).

Der Vergleich der Diagramme zeigt weiters, dass das Maximum der Gel-Fraktion mit steigendem Gehalt des Bisazids bereits nach kürzerer Belichtungszeit erreicht wird. Der Prozentsatz der Gel-Fraktion steigt auf nahezu 80% bei einem Gewichtsanteil von 2% des Vernetzers (Abb. 15), und sogar auf über 85% bei 3 Gew.-% Bisazid-Anteil (Abb. 16). Weitere Erhöhung der Vernetzungsreagenz-Konzentration führt zu Gel-Fractionen über 90%, jedoch nur bei längeren Belichtungszeiten.

Um die aus den gemessenen Daten erhaltenen Kurven zu linearisieren und somit weitere Aussagen treffen zu können, wurden Charlesby-Pinner Berechnungen durchgeführt.

### 4.2.1 Charlesby-Pinner - Analyse

Die experimentell erhaltenen Werte ( $s + \sqrt{s}$ ) wurden als Funktion der reziproken Abbauzeit ( $1/t$ ) aufgetragen, und geben eine lineare Korrelation, die sogenannte *Charlesby-Pinner* Auftragung (Kapitel 3.7).<sup>58,59</sup>

Mit Hilfe von Gleichung (11) wurden die Diagramme linearisiert (Abb. 19-Abb. 23). Aus der GPC-Analyse des verwendeten PHB-HV Polymers wurde für  $P_n^0$  ein Wert von 1200 berechnet.

$$s + \sqrt{s} = \frac{v_p}{v_q} + \frac{1}{v_q \cdot P_n^0} \cdot \frac{1}{t} \quad \text{Gleichung (11)}$$

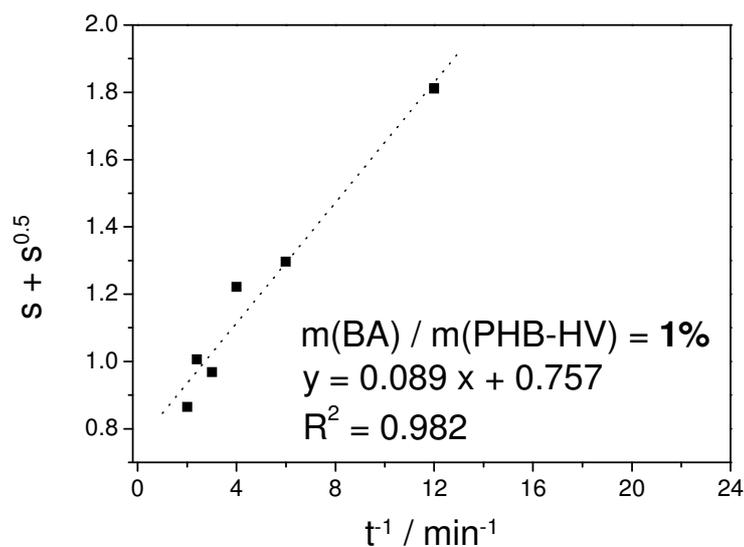
$s$  ..... lösliche Fraktion des Polymers

$v_q$  ..... Vernetzungsdichte

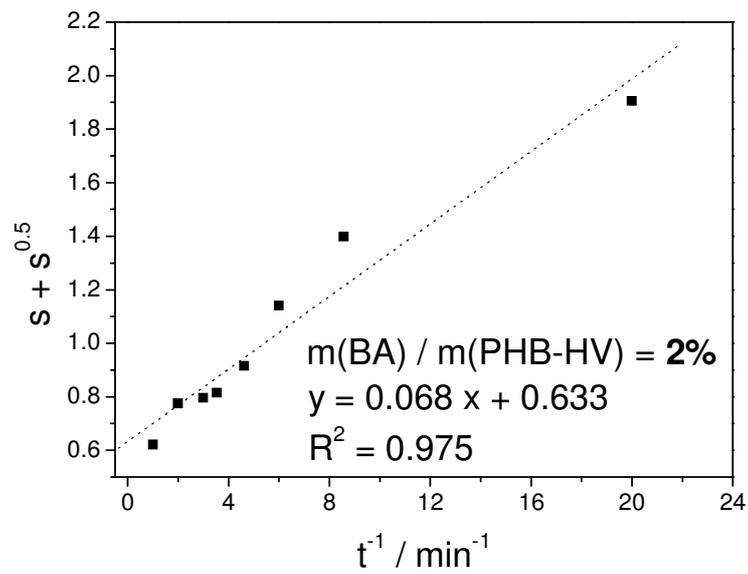
$v_p$  ..... Bruchdichte

$P_n^0$  ..... mittlerer Polymerisationsgrad

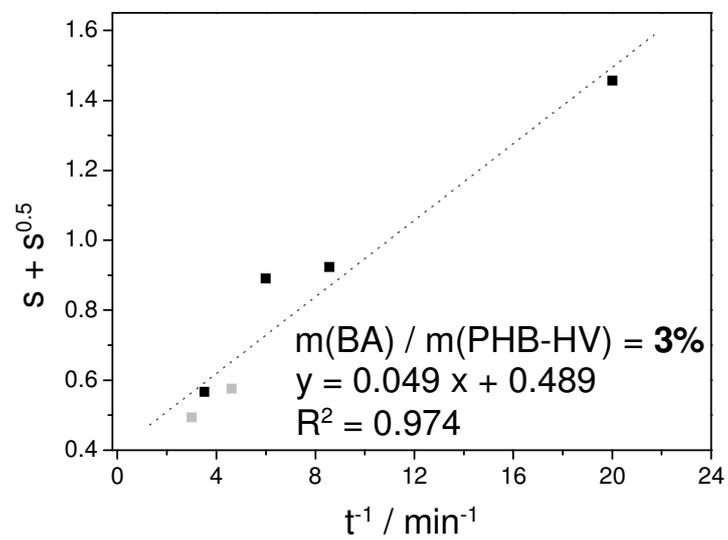
$t$ ..... Zeit



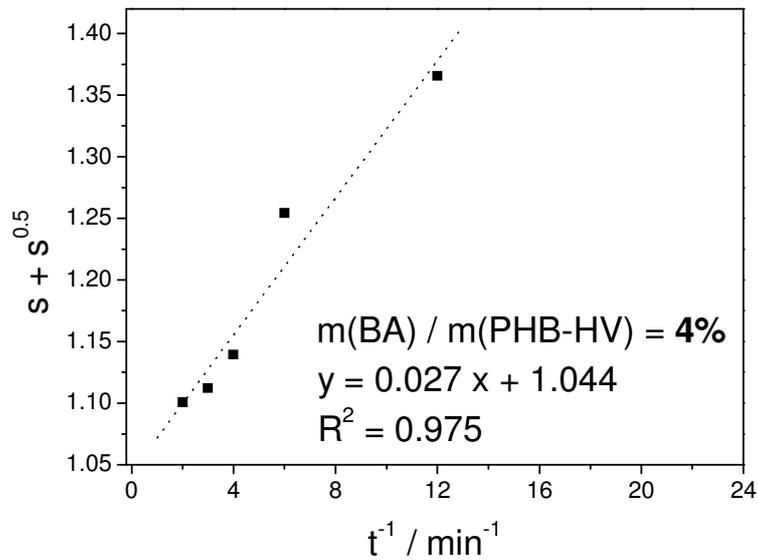
**Abb. 19:** Charlesby-Pinner Auftragung mit 1 Gew.-% Bisazid.



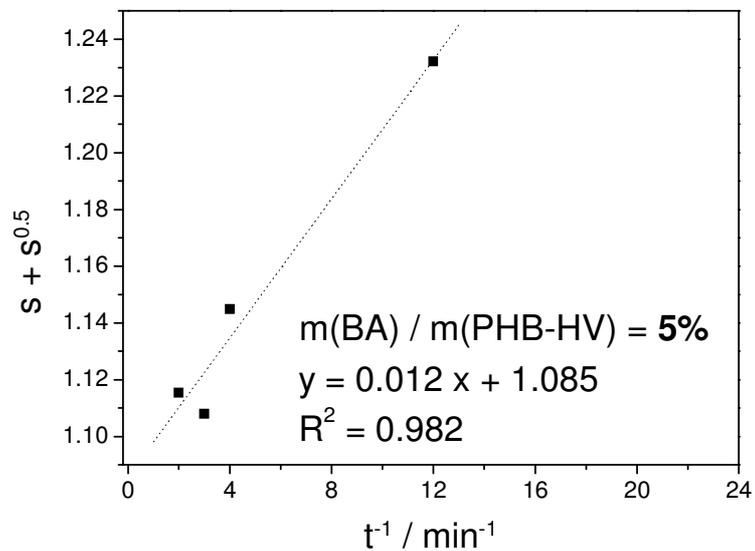
**Abb. 20:** Charlesby-Pinner Auftragung mit 2 Gew.-% Bisazid.



**Abb. 21:** Charlesby-Pinner Auftragung mit 3 Gew.-% Bisazid.



**Abb. 22:** Charlesby-Pinner Auftragung mit 4 Gew.-% Bisazid.



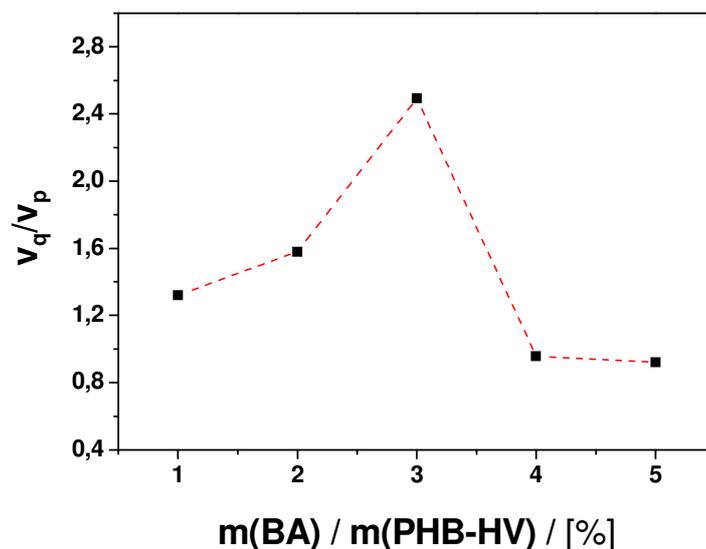
**Abb. 23:** Charlesby-Pinner Auftragung mit 5 Gew.-% Bisazid.

Für die Berechnung der Werte in der folgenden Tabelle (Tab. 5) wurde Gleichung (11) verwendet, indem aus dem Ordinatenabschnitt mithilfe der Steigung die beiden Werte  $v_p$  und  $v_q$  berechnet wurden. Eine Zusammenstellung der einzelnen Messwerte findet sich im Experimentalteil.

**Tab. 5:** Gewichtsanteil Photoinitiator (Bisazid BA) in PHB-HV mit den dazugehörigen berechneten Werte für  $v_q$  (Vernetzungsdichte) und  $v_p$  (Bruchdichte).

$m(\text{BA}) / m(\text{PHB-HV})$ [%]	$10^3 v_q / \text{min}^{-1}$	$10^3 v_p / \text{min}^{-1}$
1	9,3	7,1
2	12,3	7,8
3	15,2	6,1
4	29,9	31,3
5	67,0	72,7

Für einen besseren Überblick wurde das Verhältnis von  $v_q$  und  $v_p$  in einem Diagramm (Abb. 24) dargestellt. Es ist erkennbar, dass bei 3 Gew.-% Vernetzeranteil ein Maximum vorliegt. Das bedeutet, dass im Vergleich zu den anderen Bisazid-Konzentrationen die Wahrscheinlichkeit einer Vernetzung deutlich höher ist als die Wahrscheinlichkeit eines Kettenbruchs. Somit wäre laut den Versuchen ein Anteil von 3 Gew.-% Bisazid im Polymer ideal für die photochemische Vernetzung. Weiters ist ersichtlich, dass mit höherer Konzentration an Bisazid (> 3 Gew.-%) die Wahrscheinlichkeit für Kettenbruch im Vergleich zur Vernetzung deutlich schneller steigt.<sup>74</sup>

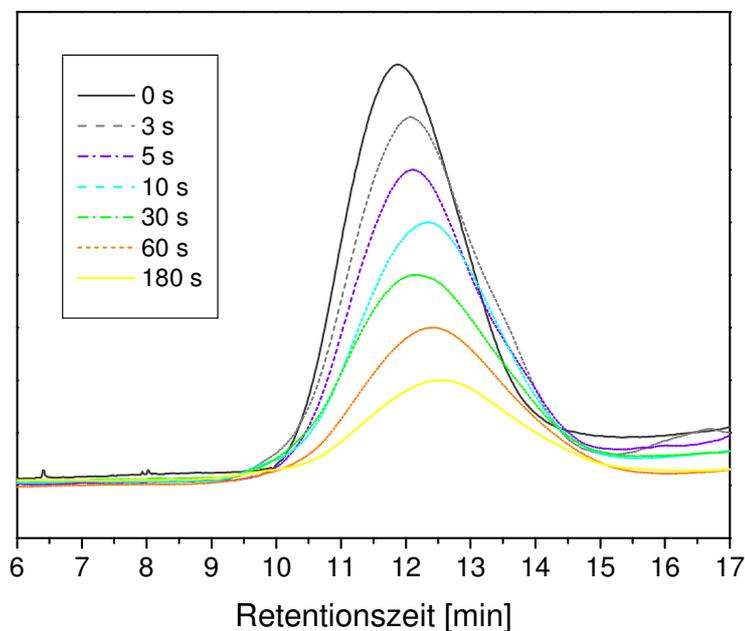


**Abb. 24:** Verhältnis von  $v_q / v_p$  für verschiedene Photoinitiator-Konzentrationen.

### 4.2.2 GPC - Ergebnisse

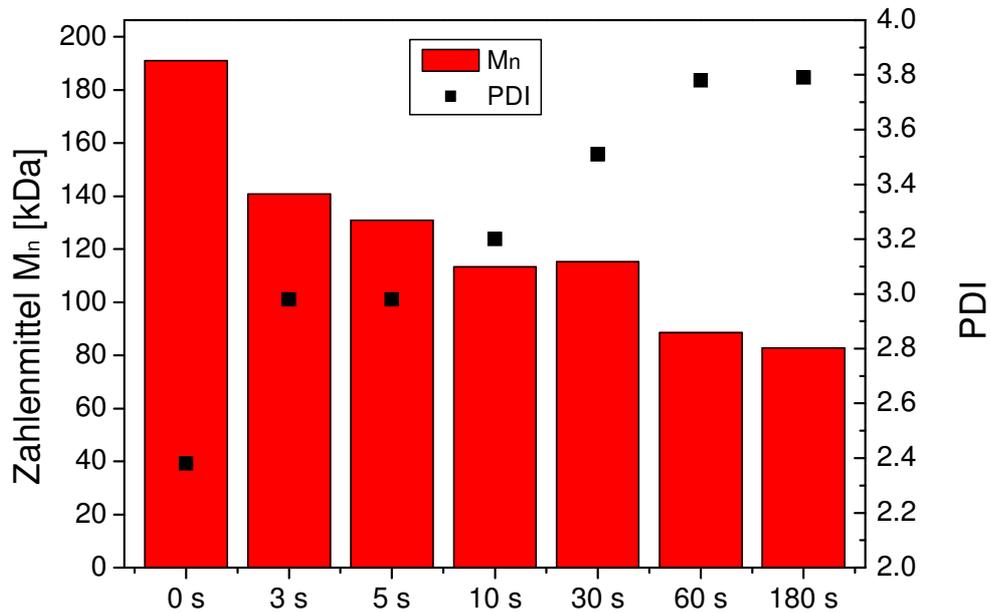
Die Sol/Gel – Analyse beruht auf der Annahme, dass die unlöslichen Fraktionen aus vernetzten Gelen bestehen, die im Entwicklungsschritt herausgelösten Fraktionen jedoch keine Gele sind. Diese Annahme wurde mit Hilfe der Größenausschluss-Chromatographie der löslichen Fraktionen bestätigt.

Die erhaltenen GPC-Chromatogramme der Sol-Fractionen der belichteten PHB-HV-Filme zeigten längere Retentionszeiten und breitere Verteilungen mit steigender Belichtungszeit (Abb. 25).



**Abb. 25:** GPC-Kurven der löslichen Polymerfraktionen aus den vernetzten PHB-HV – Filmen nach unterschiedlich langen Belichtungszeiten.

Die Molekulargewichtsverteilungen für die löslichen Anteile der vernetzten PHB-HV-Filme zeigten  $M_n$ -Werte (zahlenmittlere Molmasse), die mit steigender Belichtungszeit deutlich von 190 kDa auf 80 kDa abnahmen. Simultan dazu verbreiterte sich die durchschnittliche Molekulargewichtsverteilung, ausgedrückt im Polydispersitätsindex PDI, von 2,4 auf 3,8 (Abb. 26, Tab. 6).



**Abb. 26:** Zahlenmittel  $M_n$  und Polydispersitätsindizes PDI der löslichen Polymerfraktionen nach unterschiedlichen Belichtungszeiten der PHB-HV-Filme mit 3 Gew.-% Photoinitiator.

Es wird angenommen, dass der Grund für die deutliche Abnahme der zahlenmittleren Molmasse vom Kettenbruch stammt (4.2.1), was auch den gleichzeitigen Anstieg der PDI-Werte erklärt.

**Tab. 6:** Ermittelte Werte für  $M_n$ ,  $M_w$  und PDI aus den GPC-Chromatogrammen der löslichen Fraktion nach unterschiedlichen Belichtungszeiten der PHB-HV – Filme mit 3 Gew.-% Photoinitiator.

Belichtungszeit [s]	$M_n$ [kDa]	$M_w$ [kDa]	PDI
0	191,0	455,0	2,38
3	140,7	418,8	2,98
5	131,0	389,7	2,98
10	113,3	362,4	3,20
30	115,2	404,8	3,51
60	88,5	334,4	3,78
180	82,8	314,2	3,79

### 4.2.3 $^1\text{H-NMR}$ - Messungen

Der Copolyester PHB-HV (Schema 19) wurde in  $\text{CDCl}_3$  gelöst und ein  $^1\text{H-NMR}$  gemessen. Das Polymer besteht aus zwei monomeren Einheiten: 3-Hydroxybutyrat und 3-Hydroxyvalerat. Das Molverhältnis dieser Einheiten kann durch das Intensitäts-Verhältnis des Dupletts bei 1.26 ( $\text{H4}'$ ) und dem Triplett bei 0.88 ( $\text{H5}$ ) bestimmt werden.<sup>75</sup>

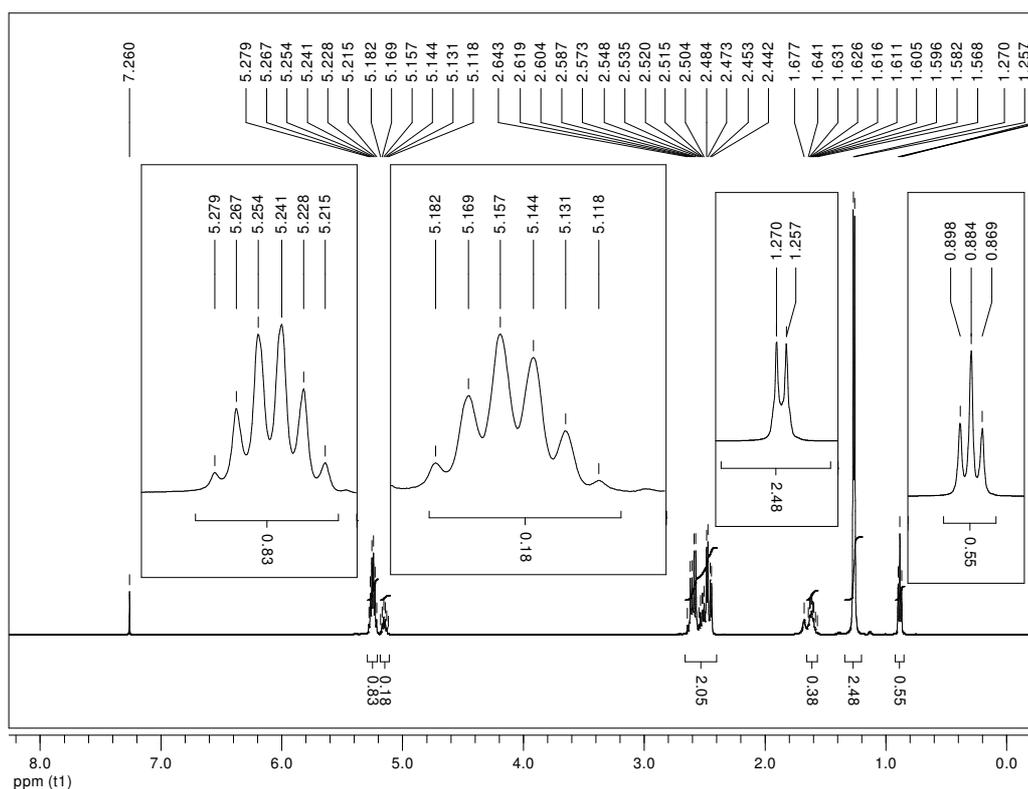


Abb. 27:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Copolyesters PHB-HV.

**NMR data:**  $\delta$  (ppm) =

0.88 (0.55; t,  $3 \cdot 0.18 \text{ H} = 0.54 \text{ H}$ ,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.9 \text{ Hz}$ , **H5**),

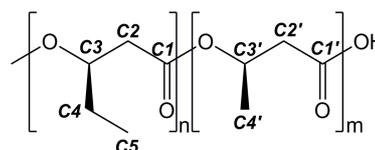
1.26 (2.48; d,  $3 \cdot 0.82 \text{ H} = 2.46 \text{ H}$ ,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.5 \text{ Hz}$ , **H4'**),

1.57-1.64 (0.38; m,  $2 \cdot 0.18 \text{ H} = 0.36 \text{ H}$ , **H4**),

2.44-2.64 (2.05; m,  $2 \cdot 0.82 \text{ H} + 2 \cdot 0.18 \text{ H} = 2 \text{ H}$ , **H2** und **H2'**),

5.12-5.18 (0.18; m (dd),  $0.18 \text{ H}$ , **H3**),

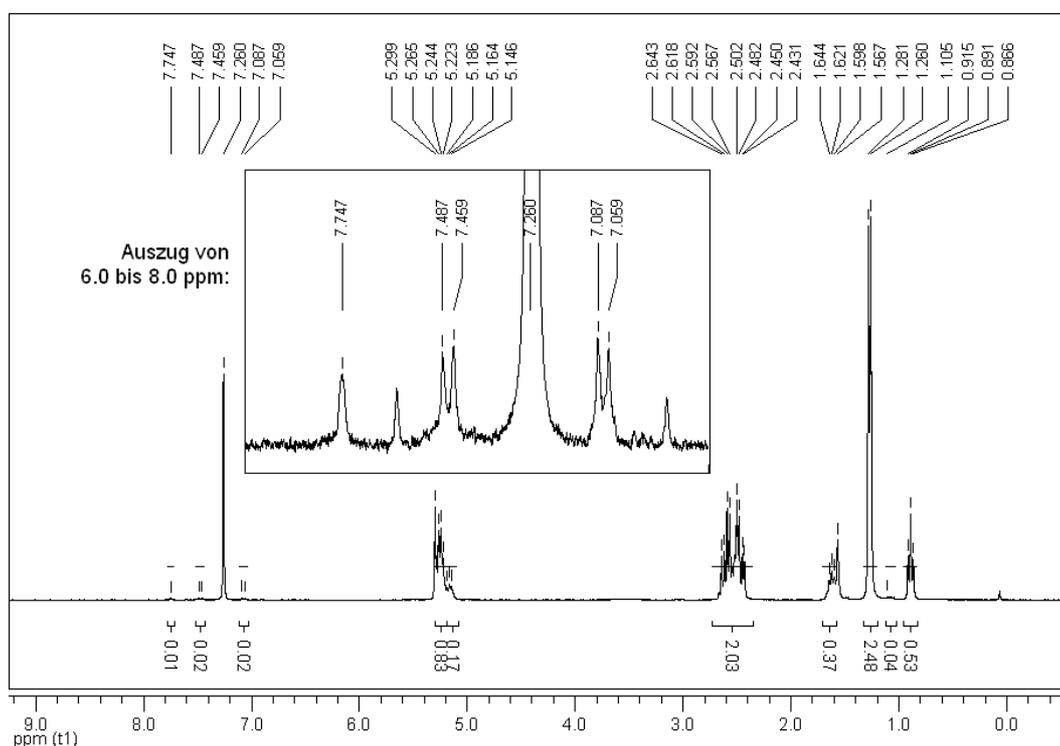
5.22-5.28 (0.83; m (dd),  $0.82 \text{ H}$ , **H3'**).



Schema 19: Chem. Struktur von PHB-HV.

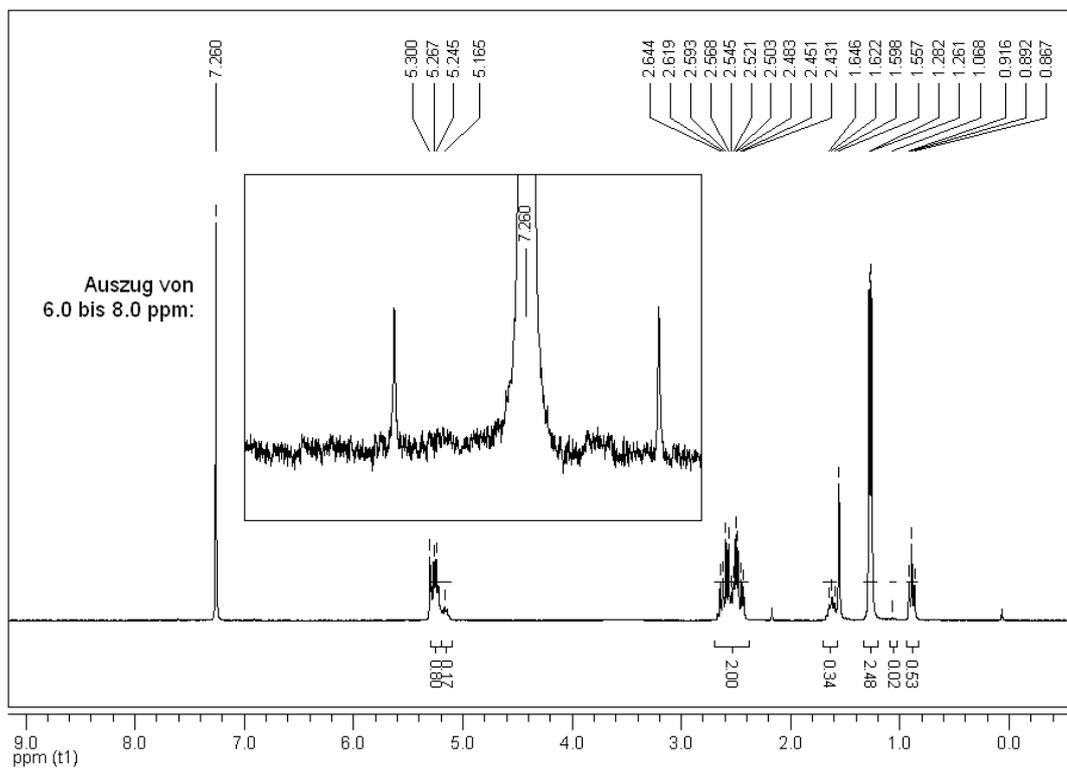
Um den Insertionsmechanismus des verwendeten Photoinitiators (Schema 7) zu verifizieren, wurden die löslichen Fraktionen der PHB-HV-Filme mit 3 Gew.-% Bisazid mittels  $^1\text{H-NMR}$  charakterisiert.

In Abb. 28 ist das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der löslichen Fraktion des unbelichteten PHB-HV-Films mit 3 Gew.-% Bisazid gezeigt. Der vergrößerte Ausschnitt von 6,0 bis 8,0 ppm zeigt, wie erwartet, die Signale der aromatischen Protonen des Photoinitiators (Abb. 28).



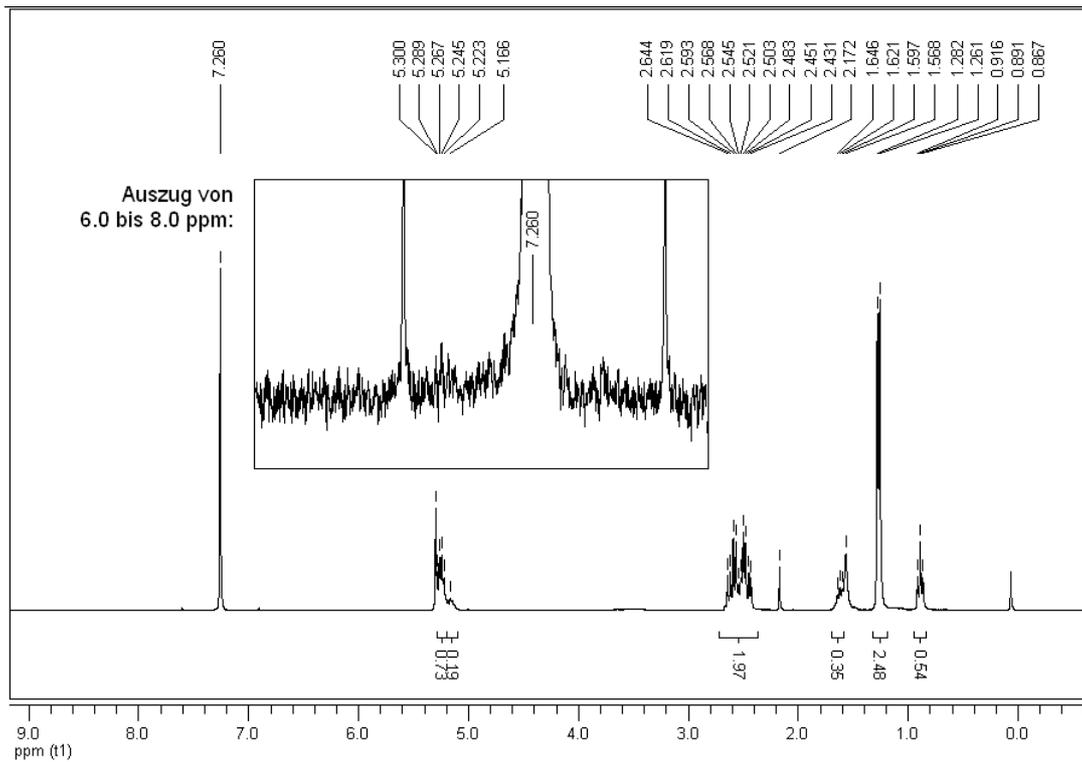
**Abb. 28:**  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der löslichen Fraktionen der unbelichteten PHB-HV-Filme mit 3 Gew.-% Bisazid.

Abb. 29 zeigt das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der löslichen Fraktion des 3 s belichteten PHB-HV-Films mit 3 Gew.-% Bisazid. Im vergrößerten Ausschnitt von 6,0 bis 8,0 ppm sind die Signale der aromatischen Protonen des Photoinitiators nicht mehr zu erkennen, da durch die UV-Belichtung von 3 s reaktive Nitrene gebildet wurden, die sich in das Kohlenwasserstoffgerüst des Polymers eingebaut haben. Aus diesem Grund sind in der löslichen, unvernetzten Fraktion keine Signale des aromatischen Bisazids zu finden.



**Abb. 29:**  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der löslichen Fraktionen der PHB-HV Filme mit 3 Gew.-% Bisazid nach 3 s Belichtung.

Dasselbe Ergebnis liefert das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der löslichen Fraktion des 20 s belichteten PHB-HV-Films mit 3 Gew.-% Bisazid (Abb. 30). Es sind keine Signale der aromatischen Protonen des Bisazids im vergrößerten Ausschnitt von 6,0 bis 8,0 ppm zu erkennen.



**Abb. 30:** <sup>1</sup>H-NMR Spektrum der löslichen Fraktionen der PHB-HV Filme mit 3 Gew.-% Bisazid nach 20 s Belichtung.

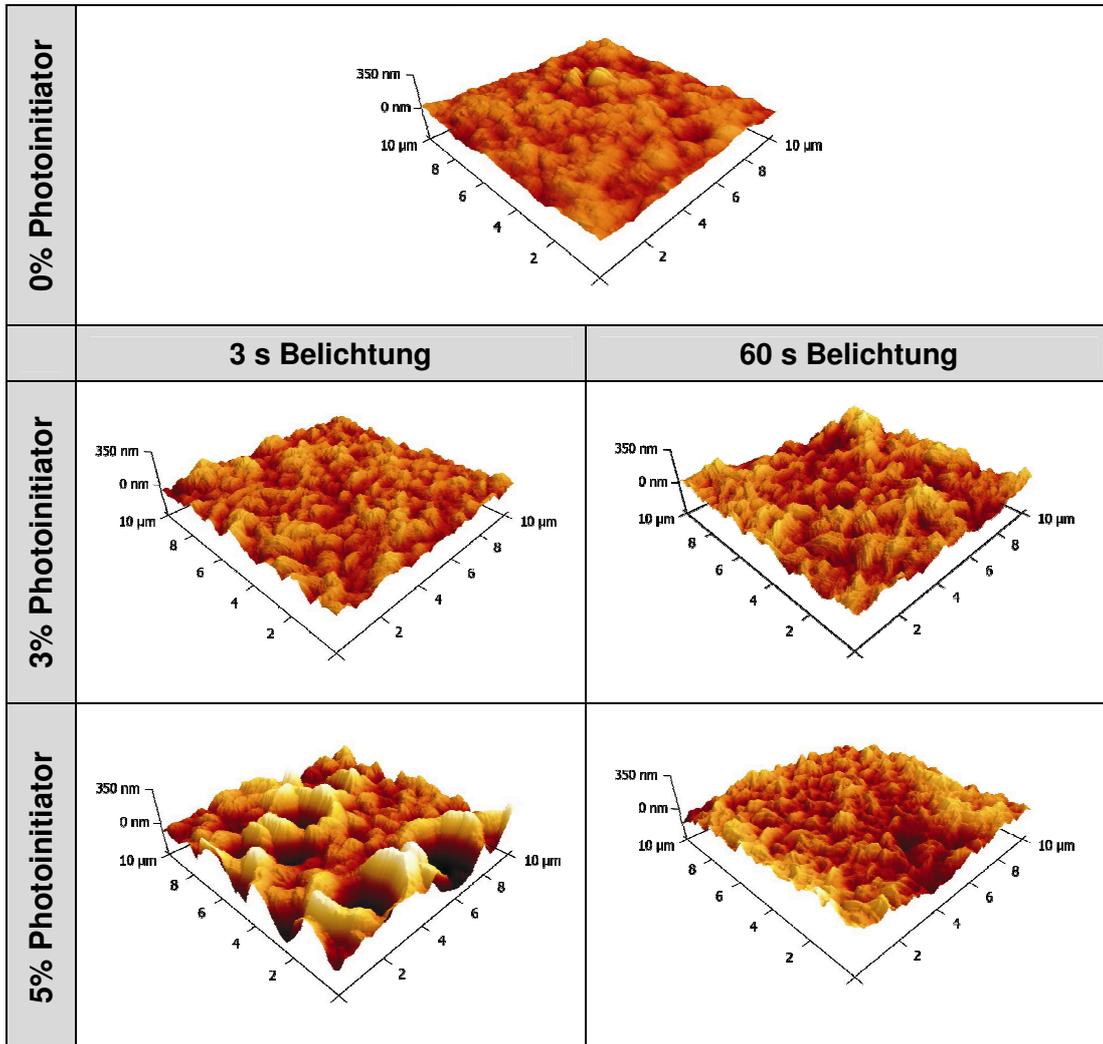
#### 4.2.4 AFM - Aufnahmen

Die Rauigkeit der PHB-HV-Filme wurde mit Hilfe eines Rasterkraftmikroskopes (Atomic Force Microscopy AFM) auf 1x1 cm großen Glassubstraten im Tapping Mode ermittelt (Tab. 7).

Dazu wurde die Oberfläche zeilenweise mit einer Nadel, die an dem so genannten Cantilever befestigt ist, abgerastert. Im Tapping Mode oszilliert die Nadelspitze über der Probe. Durch die Kräfte zwischen Spitze und Probe kommt es zu einer Auslenkung des Cantilevers gemäß dem Hooke'schen Gesetz (Gleichung (8)).

Mit Hilfe optischer Sensoren kann die Auslenkung gemessen und die Topographie der Probe bzw. die Oberflächenstruktur erfasst werden.

**Tab. 7:** AFM – Bilder (10x10 µm; Tapping Mode) mit unterschiedlichem Gehalt an Photoinitiator und unterschiedlichen Belichtungszeiten.



Die 0 s-Probe zeigt im Gegensatz zu den anderen vier AFM-Aufnahmen (10x10 µm; Tapping Mode) mit Photoinitiator (Bisazid) nur geringe Höhenunterschiede auf der Oberfläche. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass aufgrund der geringen Gelfraktion von 3,5% nach dem Entwicklungsschritt nur eine sehr dünne Beschichtung erhalten bleibt, die nur geringfügige Rauigkeit aufweist.

Beim Vergleich der Proben mit 3 Gew.-% Photoinitiatorgehalt und unterschiedlichen Belichtungszeiten (3 s, 60 s) ist kein signifikanter Unterschied in der Oberflächenrauigkeit zu erkennen. Bei den aus den FTIR-Spektren erhaltenen Ergebnissen für die Gelfraktionen (Kapitel 4.2) wurde die Ester-Peakhöhe bei  $1724\text{ cm}^{-1}$  nach der UV-Belichtung mit der Peakhöhe nach der Entwicklung verglichen.

Die Gelfraktion beträgt bei einem Photoinitiatorgehalt von 3 Gew.-% und 3 s Belichtung einen Wert von 35%, wohingegen bei 60 s Belichtung die Gelfraktion 81% beträgt. Den Abbildungen in Tab. 7 zufolge, scheint der Unterschied der Vernetzungsrate von 46% jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die Rauigkeit der Oberfläche zu haben.

Vergleicht man hingegen die für 3 s belichteten Proben mit 3 Gew.-% und 5 Gew.-% Vernetzungsreagenz, zeigt sich ein deutlicher Unterschied in der Topographie. Mit einem Gehalt von 5 Gew.-% sind „Krater-ähnliche“ Strukturen auf der Oberfläche zu sehen. Gemäß den Charlesby-Pinner Auftragungen und den daraus berechneten Werten für  $v_q$  und  $v_p$  (Abb. 24) wurde gefunden, dass bei einem Anteil von 5 Gew.-% Bisazid die Wahrscheinlichkeit des Kettenbruchs deutlich höher als die der Vernetzung ist. Da bei der kurzzeitigen Belichtung von nur 3 s das Ausmaß der photoinduzierten Vernetzung geringer ist als bei einer Belichtung von 60 s, könnten durch Kettenbruch bedingte kurzkettige Fragmente im Entwicklungsschritt aus dem Polymerfilm gelöst worden sein, und so die „Kraterbildung“ erklären.

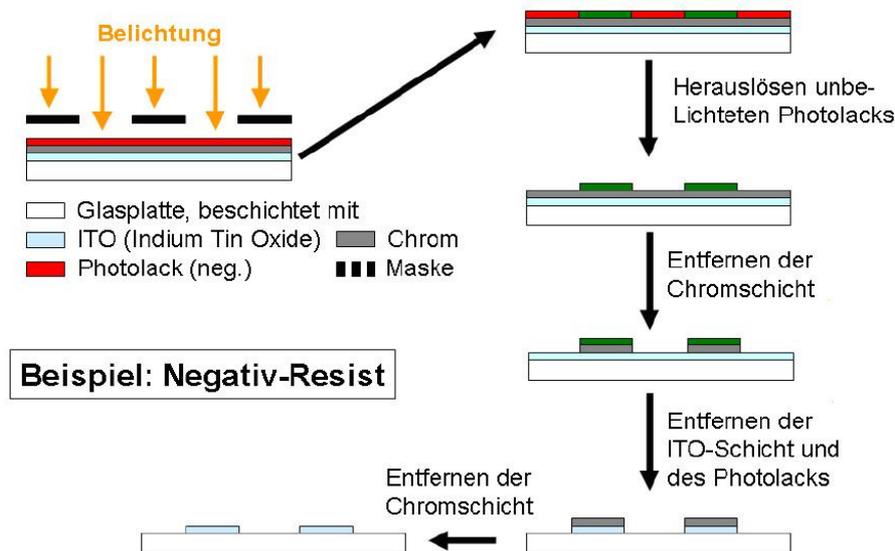
Nachdem die AFM-Messungen jedoch nur kleine Ausschnitte ( $10 \times 10 \mu\text{m}$ ) aus  $1 \times 1 \text{ cm}$  Substraten sind, könnten diese auffälligen Höhenunterschiede in der optischen Darstellung der Probenoberfläche auch auf Pinzettenkratzer oder Ähnliches zurückzuführen sein.

#### 4.2.5 Photolithographie

Die Fähigkeit von scl-PHAs als Negativ-Resist in der Photolithographie wurde ebenfalls getestet, nachdem die photochemische Vernetzung mit Bisazid erfolgreich durchgeführt werden konnte.

Auf ein mit ITO (Indium-Zinn-Oxid) und Chrom beschichtetes Glassubstrat wurde eine dünne Schicht der PHA-Bisazid-Lösung durch Spincoating aufgebracht. Durch eine Quarzmaske hindurch wurde mit einer Quecksilberlampe belichtet und somit eine Strukturierung erreicht. Durch Rückpräparation blieb nur die strukturierte ITO-Schicht auf dem Glassubstrat erhalten.

Bei der verwendeten Negativresist-Methode wurde der ungeschützte Photolack durch Belichtung fixiert, während der maskierte Teil durch entsprechende chemische Behandlung entfernt werden konnte (Schema 20):



**Schema 20:** Schrittweise Vorgehensweise zur Strukturierung in der Photolithographie mit Hilfe eines Negativresists.

Das Maskenbild (Abb. 31) wurde an einem Durchlichtmikroskop bei 50-facher Vergrößerung aufgenommen und zeigt eindrucksvoll die gewünschte Struktur, die Verwendung eines Biopolymers für photolithographische Prozesse zeigt das enorme Potential der PHAs für die Zukunft.



**Abb. 31:** TU Graz Logo, erhalten durch Photolithographie mittels PHA-basierenden Negativresist.

In der Literatur findet man im Entwicklungsschritt auch Depolymerase-Lösungen, da vernetzte Polymere deutlich langsamer abgebaut werden als unvernetzte.<sup>44</sup> Diese Art zu entwickeln könnte eine noch umweltfreundlichere Methode für die zukünftige Anwendung von bioabbaubaren Polymeren in der Photolithographie bieten.

### 4.3 Formkörperherstellung und mechanische Charakterisierung

Es wurden Schulterstäbe und Bohrdrähte mittels Doppelschneckenextruder aus dem PHB Homopolymer und dem PHB Copolymer (18,25% HV) spritzgegossen. Um optimale Formkörper zu erhalten, wurden die Temperatureinstellungen am Extruder, sowie die Verweilzeiten im Gerät selbst variiert (Tab. 8 und Tab. 9). Folgende Parameter wurden am Extruder eingestellt:

**Tab. 8:** Temperatureinstellungen für die Herstellung der Schulterstäbe.

	PHB Homopolymer	PHB Copolymer (18,25% HV)
	Temperatur [°C]	
<b>Extruder</b>	175	160
<b>Zylinder</b>	167	162
<b>Form</b>	116	60

**Tab. 9:** Optimierte Parameter für die Herstellung der spritzgegossenen Formkörper.

	Masse [g]	Zeit [s]	Ventil	Schneckenumdrehung [min <sup>-1</sup> ]
Dosierung 1	1.5	45	Bypass	150
Dosierung 2	1.5	45	Bypass	150
Dosierung 3	1.5	45	Bypass	150
Homogenisierung		120	Bypass	150
Zylinder-Füllung		30	offen	250
Spritzguss		15		
Nachdruckzeit		5		
Entnahme		15		
Gesamtzeit		320		

Durch direkte Auslassversuche (ohne Form) konnte man erkennen, dass bei längerer Mischzeit bzw. Verweilzeit im Extruder mehr Luftblasen im Material entstehen. Aufgrund dessen und der zu minimierenden thermischen und mechanischen Belastung des Materials wurde die Mischzeit nach der vollständigen Polymerzugabe kurz gehalten.

Der scharfe Übergang des Aggregatzustandes von flüssig auf fest impliziert rasche Verarbeitungsgeschwindigkeiten, die durch Anpassung des Temperaturprofils und der Schneckenumdrehungszahl erreicht werden können. Durch die Limitierung des Drucks auf unter 5 bar erfolgt der Aufschmelzvorgang durch Heizungswärme und weniger durch Reibungswärme.

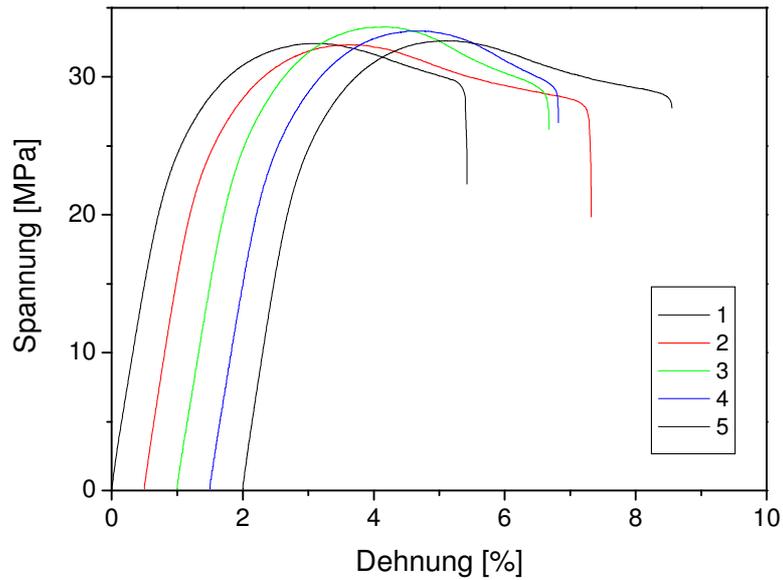
Die mechanischen Eigenschaften der spritzgegossenen Schulterstäbe (Typ 1A laut EN ISO 527-2) wurden im *Transfercenter für Kunststofftechnik GmbH* in Wels (Prüfbericht 239 10) in einem Zugversuch in Anlehnung an ISO 527 ermittelt (Tab. 10, Tab. 11; Abb. 32 und Abb. 33). Die Proben wurden entsprechend ISO 291 konditioniert.

Es wurden zwei Probenserie mit je 5 Schulterstäben vermessen. Bei der zweiten Probenserie wurde eine Probe nicht in die Auswertung einbezogen, da eine erkennbare Fehlstelle am Prüfkörper war. Die Ermittlung des E-Moduls erfolgt in einem Schritt mit der Ermittlung der Zugfestigkeit durch Umschalten der Prüfungsgeschwindigkeit.

#### Statistik Probenserie 1

**Tab. 10:** Statistische Auswertung der Probenserie 1 vom Zugversuch.

<b>Serie n = 5</b>	<b>Probendicke a0 [mm]</b>	<b>Probenbreite b0 [mm]</b>	<b>Et [MPa]</b>	<b><math>\sigma_M</math> [MPa]</b>	<b><math>\epsilon_M</math> [%]</b>	<b><math>\sigma_B</math> [MPa]</b>	<b><math>\epsilon_B</math> [%]</b>
x	1,558	4,904	3029,50	32,87	3,13	24,54	5,96
s	0,008367	0,01517	122,33	0,58	0,05	3,35	0,68

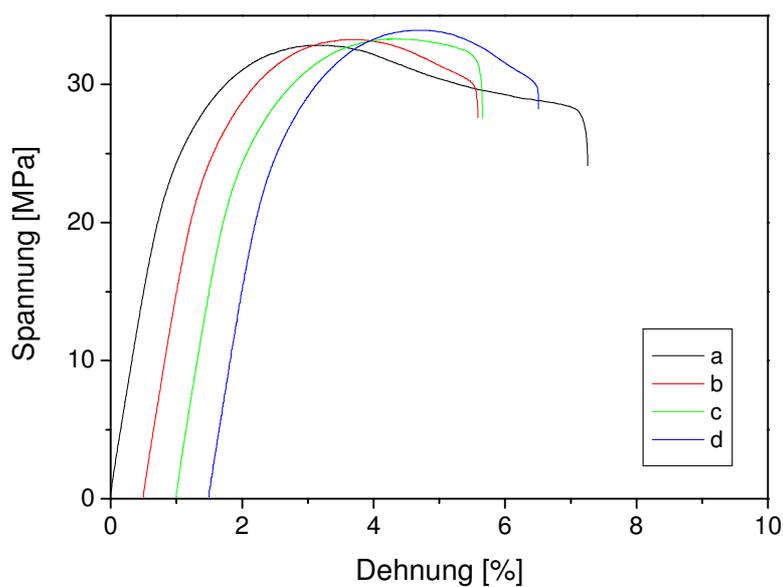


**Abb. 32:** Spannungs-Dehnungsdiagramm zur Bestimmung der Zugeigenschaften (Serie 1).

#### Statistik Probenserie 2

**Tab. 11:** Statistische Auswertung der Probenserie 2 vom Zugversuch.

Serie n = 4	Probendicke a0 [mm]	Probenbreite b0 [mm]	Et [MPa]	$\sigma_M$ [MPa]	$\epsilon_M$ [%]	$\sigma_B$ [MPa]	$\epsilon_B$ [%]
x	1,56	4,885	2970,02	33,34	3,23	26,88	5,50
s	0,000	0,005774	25,47	0,45	0,09	1,87	1,18



**Abb. 33:** Spannungs-Dehnungsdiagramm zur Bestimmung der Zugeigenschaften (Serie 2).

Die Ergebnisse beider Probenserien bestätigten die erfolgreiche Herstellung spritzgegossener Formkörper mit optimierten Parametern. Obwohl Biopolymere verwendet wurden, ist die hohe Reproduzierbarkeit durch die geringe Standardabweichung  $s$  in beiden Probenserien gezeigt (Tab. 10, Tab. 11).

Die gemessenen mechanischen Eigenschaften aus dem Zugversuch zeigen weiters vergleichbare Werte mit konventionellen Kunststoffen (Tab. 12).

**Tab. 12:** Vergleich der mechanischen Eigenschaften der spritzgegossenen Schulterstäbe mit konventionellen Kunststoffen/Biopolymeren.

Polymer	Zugfestigkeit [MPa]	Bruchdehnung [%]
PHB-HV	33	6
Poly(propylen) PP	34	400
Biopol (PHB-HV)	32	8
PHB	40	2

## 5 Zusammenfassung

PHAs sind natürlich vorkommende, unverzweigte Polymere, die aus 3-Hydroxyfettsäure-Monomeren zusammengesetzt sind. Sie werden von Bakterien als Folge von metabolischem Stress aufgrund limitierter Versorgung mit essentiellen Nährstoffen und einem Überangebot an Kohlenstoff, in Form von Zelleinschlüssen als Speicherstoff eingelagert. Bei der Verarbeitung von thermisch instabilem Poly(hydroxybutyrat) PHB und verwandten kurzkettigen Poly(hydroxyalkanoat)en scl-PHAs in schmelzverarbeitenden Formgebungsprozessen verringert sich das Molekulargewicht unter den angewandten Temperaturen signifikant. Mit einer Schmelztemperatur des PHB im Bereich von 170-180 °C müssen die Verarbeitungstemperaturen bei mindestens 180-190 °C liegen, sodass thermisch induzierter Abbau zu Kettenbruch und veränderten mechanischen Polymereigenschaften führt. Bei Temperaturen über 300 °C kommt es durch den Polymerabbau zu niedermolekularen Komponenten.

Aus diesem Grunde wurde versucht, das Biopolymer bereits im Voraus zu vernetzen, um dem thermischen Abbau und somit dem Kettenbruch bei der Prozessierung bei Temperaturen oberhalb des Schmelzpunktes präventiv entgegenzusteuern und dadurch die Eigenschaften der Biopolymere zu verbessern.

Im Zuge dieser Arbeit wurden short-chain length Poly(hydroxyalkanoat)e scl-PHAs erfolgreich photochemisch mit hoher Reproduzierbarkeit vernetzt. Dazu wurden  $\text{CaF}_2$ -Plättchen mit einer Lösung aus dem Biopolymer PHB-HV und einem Photoinitiator beschichtet und mittels UV-Bestrahlung bei Raumtemperatur vernetzt. Als Vernetzungsreagenz diente das Bisazid 2,6-bis(4-azidobenzyliden)-4-methylcyclohexanon, das bei Bestrahlung Stickstoff eliminiert. Infolgedessen bilden sich äußerst reaktive Nitrene, die nach der Insertion in die Kohlenwasserstoffbindungen der Polymerkette eine Netzwerk-Bildung bewirken. Es entstehen somit Produkte, die zur gewünschten Erhöhung der mittleren Molmasse führen. Gelfraktionen von 90% mit einer Bestrahlungsdauer unter einer Minute wurden bei Raumtemperatur erreicht. Die Abhängigkeit der optimalen Belichtungsdauer vom Photoinitiatorgehalt der PHB-HV-Polymerfilme für möglichst hohe Gelfraktionen konnte mithilfe der Charlesby-Pinner Auftragsungen bestimmt werden. Dabei zeigte sich, dass ein Photoinitiatorgehalt von

3 Gew.-% am besten für das bestehende System geeignet ist und zu der höchsten Vernetzungsrate im Vergleich zu Kettenbruch führt.

In der vorliegenden Arbeit wurden weiters biologisch kompostierbare PHB-HV-Filme auf ITO (Indium-Zinn-Oxid) Substraten über eine Maske wiederum photochemisch vernetzt. Die erhaltene Struktur bewies das Potential der PHAs für eine zukünftige, umweltfreundliche Alternative in der Photolithographie als Photolack.

Die Polymeroberflächen wurden nach der Belichtung und Entwicklung mittels AFM (Rasterkraftmikroskop) charakterisiert. Für potentielle Anwendungen in den verschiedensten Bereichen ist die Oberflächenrauigkeit von großer Bedeutung, beispielsweise um die Abbaugeschwindigkeit in-vitro und in-vivo maßzuschneidern.

Weiters wurden die Geräteparameter für die Herstellung von Formkörpern aus den Biopolymeren optimiert, um bei Temperaturen nur knapp oberhalb des Schmelzpunkts und kurzen Verweilzeiten im Extruder zu prozessieren, und dadurch den thermischen Abbau zu minimieren. Dazu wurden die Geräteeinstellungen variiert, das Temperaturprofil und die Verarbeitungsgeschwindigkeit im Extruder angepasst und folglich Schulterstäbe und Bohrdrähte aus reinem PHB sowie aus dem Copolymer PHB-HV spritzgegossen. Die physikalischen Kenngrößen der hergestellten Schulterstäbe wurden in anschließenden Zugversuchen ermittelt und zeigen mit konventionellen Kunststoffen vergleichbare Werte: Die Zugfestigkeit von PHB-HV beträgt 33 MPa im Vergleich zu Poly(propylen) mit einer Zugfestigkeit von 34 MPa. Das Copolymer PHB-HV mit 6% Bruchdehnung stimmt mit dem unter dem Handelsnamen bekannten Copolymer Biopol (PHB-HV) mit 8% Bruchdehnung und einer Zugfestigkeit von 32 MPa gut überein.

Scl-PHAs mit nicht-funktionalisierten Seitenketten sind momentan die einzig kommerziell erhältlichen PHAs, die in großen Mengen verfügbar sind und das Potential haben, petrochemisch hergestellte Kunststoffe zu substituieren.

In Kombination mit einem photosensitiven Vernetzungsreagenz ist es im Zuge dieser Masterarbeit gelungen, eine UV-induzierte Vernetzung der als reaktions-träge bekannten scl-PHAs bei Raumtemperatur zu erzielen, die einerseits dem thermisch induzierten Kettenbruch präventiv entgegenwirkt und die Energiekosten minimiert. Der Verzicht funktioneller Gruppen vereinfacht den Herstellungsprozess des Biopolymers und erhöht gleichzeitig die Kosteneffizienz.

## 6 Abstract

PHAs are biogenic unbranched polymers composed of 3-hydroxy fatty acid monomers. They are produced by bacteria in periods of metabolic stress / nutrient-limited conditions concomitant with excess carbon sources and stored intracellularly as granula. During processing of poly(hydroxybutyrate) PHB and related short-chain length scl-PHAs, their molecular weights decrease significantly as a result of the temperatures applied: With melting temperatures in the range of 170-180 °C, processing temperatures starting from 180 °C have to be applied, and thermal degradation involving chain scission occurs, adulterating the (mechanical) polymer properties. At temperatures above 300 °C, polymer degradation even yields low mass molecular compounds. Hence, this thesis aimed at preventive crosslinking of the biopolymer in order to overcome these drawbacks.

In this work, the feasibility of successful photochemical crosslinking of short-chainlength poly(hydroxyalkanoat)es, scl-PHAs, was proven with high reproducibility. CaF<sub>2</sub> substrates were spincoated with solutions composed of PHB-HV and a photoinitiator (a bisazide), which were crosslinked under UV irradiation at room temperature. The bisazide, namely 2,6-bis(4-azidobenzylidene)-4-methylcyclohexanone, acted as crosslinking agent and formed reactive nitrenes under UV-irradiation, which inserted into the carbon hydrogen bonds of the biopoly(ester) and formed networks. Consequently, the yielded products lead to an increase of the average molecular weight. As a result, crosslinking degrees of 90% within radiation times lower than 1 min were reached. Furthermore, it was found that 3 wt.-% of bisazide in PHB-HV were the optimum concentration relating to the rate of crosslinking versus the rate of chain scission, which were calculated from Charlesby-Pinner analyses.

Furthermore, biodegradable films of PHB-HV on ITO (indium-tin-oxide) substrates were crosslinked under a patterned mask using UV light. The patterned image shows the potential of biodegradable compounds in photolithography as photosensitive material.

After irradiation and development of the films, Atomic Force Microscopy (AFM) was used to characterize the surface. With regard to potential application in various fields, surface properties are of great importance to control the degradation time in-vitro and in-vivo.

Since injection moulding is a major processing route for polymers, the influence of injection moulding parameters was investigated in order to obtain optimum conditions for processing scl-PHAs. It is important to work at temperatures as low as possible and to minimize the processing time in order to reduce thermal degradation. Two different moulds were used for processing with optimized parameters to yield shoulder shaped test bars and sticks out of PHB and the copoly(ester) PHB-HV.

Subsequently, the mechanical properties of the specimen were determined in mechanical tests; they were found to show comparable values, which are similar to common poly(propylene) and PHB-HV (Biopol). The ultimate tensile strength of PHB-HV was 33 MPa compared to common poly(propylene) with 34 MPa. The copolymer PHB-HV showed a value of 6% for elongation at break, compared to a value of 8% elongation at break for the copolymer Biopol (PHB-HV), with an ultimate tensile strength of 32 MPa.

Scl-PHAs with non-functionalized side chains are the only PHAs commercially available in large quantities and show a big potential to be used as novel materials in biodegradable products. Although they are known for their low reactivity, the UV-induced crosslinking with bisazides at room temperature was investigated and performed successfully in this study, keeping temperature-induced chain scission as well as energy costs at minimum.

## 7 Danksagung

Die vorliegende Masterarbeit wurde am Institut für Chemische Technologie von Materialien an der Technischen Universität Graz unter der Leitung von Dipl.-Chem. Univ. Ass. Dr. rer. nat. Frank Wiesbrock durchgeführt. Für seine hilfreichen fachlichen Anregungen, verständnisvollen Erklärungen und seine kompetente Betreuung gebührt ihm mein besonderer Dank. Ich möchte ihm auch für die Möglichkeit und die wertvolle Erfahrung danken, dass ich an einer internationalen Polymerkonferenz teilnehmen durfte.

Herrn Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr. techn. Franz Stelzer danke ich für die Ermöglichung am Institut für Chemische Technologie von Materialien meine Masterarbeit zu verfassen.

Weiters möchte ich mich bei meinen „Mitstreiterinnen“ Verena Kaltenhauser und Julia Langer, sowie bei meinen Arbeitskollegen Dipl.-Ing. Thomas Bodner, Bianca Wirnsberger, Stefan Kalin, Lisa Ellmaier, Hannes Offenbacher, Angela Hecke und Dipl.-Ing. Dr. techn. Barbara Rupp für die tatkräftige und moralische Unterstützung in allen Belangen bedanken.

Besonderer Dank gilt meinem Kollegen Dipl.-Ing. Clemens Ebner, der mir bei dieser Masterarbeit bei Fragen jeglicher Hinsicht mit Rat und Tat zur Seite gestanden ist. Auch für die Verbreitung von stets guter Laune sei allen Kollegen aus dem gemeinsamen Schreibraum ein herzliches Dankeschön ausgesprochen.

Ich möchte mich auch bei allen Institutskollegen für die freundliche Aufnahme und die diversen Hilfeleistungen bedanken.

Frau Ing. Josefine Hobisch möchte ich für die rasche und kompetente Erledigung der GPC-Analysen danken.

Für die AFM-Aufnahmen möchte ich Dr. Ming Wu, Dipl.-Ing. Thomas Bodner und Stefan Kalin danken.

Mein Dank gebührt ebenso Frau Professor Annelie Martina Weinberg als Leiterin des Laura Bassi Zentrums BRIC, in dessen Rahmen diese Masterarbeit

erstellt wurde. Bedanken möchte ich mich auch bei dem restlichen BRIC-Team für die anregenden Diskussionen. Im Besonderen gilt mein Dank Dr. Martin Koller und Angelika Reiterer für die Bereitstellung des Polymers.

Zu guter Letzt möchte ich mich ganz besonders bei meiner Familie bedanken: Meinen Eltern, die mir das Studium ermöglicht haben und dafür gesorgt haben, dass ich mich darauf konzentrieren kann.

Meinen beiden Schwestern Regina und Barbara danke ich für die (mentale) Unterstützung und ihr Vertrauen in mich.

Meinem Freund Patrick möchte ich für das aufgebrachte Verständnis, seine Geduld und die Unterstützung in allen Lebenslagen danken.

## 8 Experimentalteil

### 8.1 Analysenmethoden

#### 8.1.1 Infrarot-Spektroskopie

Die IR Spektren wurden am FT-IR-Spektrometer Perkin Elmer Spectrum One mit einem DTGS-Detektor (DTGS = Deuterated Triglycine Sulphate) aufgenommen. Die Proben wurden in Form eines Films auf CaF<sub>2</sub>-Plättchen im Transmissionsmodus (16 Scans, spektrale Reichweite von 4000 cm<sup>-1</sup> bis 800 cm<sup>-1</sup>) vermessen.

#### 8.1.2 <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie

<sup>1</sup>H-NMR Spektren wurden mit Hilfe eines Bruker Avance III 300 MHz Spektrometer aufgenommen. Die Proben wurden entsprechend ihren Löslichkeiten in deuteriertem Chloroform, Deuteriumoxid oder DMSO gelöst. Als Bezugspunkt diente das jeweilige Lösemittel-Restsignal. Die Referenzierung der Verunreinigungen erfolgte nach Gottlieb et al.<sup>76</sup>

#### 8.1.3 GPC

Das Molekulargewicht der Polymere wurde anhand der Gelpermeationschromatographie (GPC) bestimmt. Die Polymere wurden dazu in einem geeigneten Lösemittel gelöst, i. A. reines CHCl<sub>3</sub> oder CHCl<sub>3</sub> / Et<sub>3</sub>N / *iso*PrOH (94 / 4 / 2) und analysiert.

Die Messungen wurden mit einem Gerät der Firma Merck Hitachi L-6000A pump (Trennsäule von Polymer Standard Service, 8 x 300 mm STV linear XL 5 µm, differentielles Refraktometer Waters 410, als Detektor, Poly(styrol)-Standards zur Kalibration) durchgeführt.

### 8.1.4 AFM

Die Oberfläche der PHB-HV-Filme wurden mit einem VEECO AFM Nanoscope II A SPM, angesteuert durch die Workstation 7.30r1sr3, im Tapping Mode mit einer Silizium-Spitze analysiert. Für die 10 µm x 10 µm Messungen wurde Scanner E verwendet.

### 8.1.5 Chemikalien

Die in der Arbeit verwendeten Chemikalien wurden von der Firma Sigma Aldrich oder Fluka bezogen und ohne weitere Reinigung verwendet.

Kommerzielle Proben des Biopolymers PHB wurden von M. Koller und G. Braunegg (Institut für Biotechnologie und Bioprozesstechnik, TU Graz) zur Verfügung gestellt.

Das verwendete PHB Copolymer (PHB-HV, L-132 18.25%-HV, 2008, Biocycle, Brazil) wurde wie folgt gereinigt: Soxhlet Extraktion in Ethanol (ca. 24h), die erhaltene Masse wurde im Vakuumofen getrocknet. Nach der Extraktion des Polymers war das Pulver heller, was auf eine Verringerung der Lipid- und Proteinkonzentration hinweist.

Im ersten Extraktionsschritt wurde die Masse im Dichlormethan gelöst (innerhalb von 4 bis 5 Tagen, unter Rührung), filtriert und in Ethanol gefällt. Nach der Filtration wurde das Polymer über Nacht im Vakuumofen getrocknet. Die erhaltene Masse war ca. 30% der anfänglichen Menge.

Im zweiten Extraktionsschritt wurde die Masse wiederum in Dichlormethan gelöst und filtriert. Nach der Fällung in Ethanol und der Filtration wurde das erhaltene Polymer über Nacht im Vakuumofen getrocknet. Eine weitere Fällung in Ethanol wurde durchgeführt, anschließend wurde das Polymer mit einer Porengröße von eins filtriert. Über Nacht wurde das Polymer getrocknet. In diesem Schritt betrug die Ausbeute 65% der ursprünglich eingesetzten Masse.

Die folgenden Daten des verwendeten PHB-HV Polymers (Probe 1, verwendet für Sol/Gel Analyse, <sup>1</sup>H-NMR und Photolithographie) stammen aus der Gel-Permeations-Chromatographie - Analyse:

Zahlenmittel der Molmasse  $M_n$ : 106,7 kDa

Polydispersitäts-Index PDI: 2,8

PHB-HV (Probe 2, verwendet für die gravimetrische Methodvalidierung und die GPC-Analysen der löslichen Fraktion):

Zahlenmittel der Molmasse  $M_n$ : 191,1 kDa

Polydispersitäts-Index PDI: 2,4

Der verwendete Photoinitiator 2,6-Bis(4-azidobenzyliden)-4-methylcyclohexanon (97%) wurde bei Aldrich gekauft und ohne weitere Reinigung verwendet.

## **8.2 Polymeranaloge Reaktionen**

### **8.2.1 Thermische Vernetzung**

Das in Dichlormethan gelöste PHB-HV Copolymer wurde für die ersten Versuche mit 3 Gew.-% Photoinitiator 2,6-Bis(4-azidobenzylidene)-4-methylcyclohexanon -ebenfalls in Dichlormethan gelöst- versetzt. Auf  $\text{CaF}_2$ -Plättchen wurde mittels Spincoating eine dünne Schicht (einige  $\mu\text{m}$ ) dieser Lösung aufgebracht. Das verwendete Programm lautete: 20 s, speed 100 (x10) rpm, ACCN (x100) rpm/s. Anschließend wurden die beschichteten Substrate unterschiedlich lange bei 165 °C mithilfe einer Kristallisierschale im Trockenschrank gelagert. Die Dauer im Trockenschrank betrug 10 s, 30 s, 60 s, 90 s, 120 s und 180 s, wobei jeweils eine Dreifachbestimmung durchgeführt wurde.

Von den ausgekühlten Plättchen wurde ein IR-Spektrum (*Perkin Elmer*, Spectrum one) aufgenommen, um die Veränderungen in der Struktur des Polymers verfolgen zu können. Die Substrate wurden dann für 20 Minuten in Dichlormethan entwickelt und danach an Luft getrocknet. Um den Anteil der unlöslichen Fraktion aus dem Unterschied in der Absorption der Esterbande bei  $1724\text{ cm}^{-1}$  laut Gleichung (10) berechnen zu können, wurde erneut ein IR-Spektrum gemessen.

### 8.2.2 Halogenierung

0,5 g gereinigtes PHB-HV wurde in 150 mL  $\text{CCl}_4$  suspendiert und mit 1 Äquivalent N-Bromsuccinimid (NBS) und 0,01 Äquivalenten Azobisisobutyronitril (AIBN) versetzt. Diese Mischung wurde in einem 250 mL Rundhalskolben unter Rühren auf Rückfluss 24 h erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde das Lösungsmittel am Rotavapor verdampft, der weiße Rückstand in  $\text{CHCl}_3$  gelöst und in kaltem EtOH gefällt. Das ausgefallene Polymer wurde filtriert und getrocknet und mittels  $^1\text{H}$ -NMR analysiert. Derselbe Versuch wurde unter gleichen Bedingungen auch in  $\text{CHCl}_3$  durchgeführt.

### 8.2.3 Photobromierung

1 g PHB-HV wurde in 50 mL  $\text{CCl}_4$  in einem Dreihalsrundkolben suspendiert und zum Sieden erhitzt. 0,12 mL  $\text{Br}_2$  wurden zugetropft, während des Zutropfens wurde der Reaktionskolben mit einer 150 Watt Photolampe bestrahlt. Der entweichende Bromwasserstoff wurde durch den Rückflusskühler in einen Erlenmeyer mit  $\text{H}_2\text{O}$  eingeleitet. Nach 72 h wurde die Reaktion aufgearbeitet indem das Lösungsmittel verdampft wurde und das Polymer in kaltem EtOH gefällt, filtriert und getrocknet wurde.

### 8.2.4 Vernetzung mit Dicumylperoxid

0,1 g PHB-HV wurden mit 1 Gew.-% Dicumylperoxid vermischt und in einer Kristallisierschale im Ofen bei 170 °C für 20 min thermisch gelagert.

### 8.2.5 Hydrolyse in der Mikrowelle

0,2 g PHB-HV wurden mit 5 mL HCl (6 M) in der Mikrowelle bei 180 °C für je 5,5 h, 2 h und 1 h hydrolysiert. Die erhaltene gelbliche Flüssigkeit wurde durch einen Papierfilter filtriert, das Lösemittel abgezogen und in  $\text{D}_2\text{O}$  für die NMR-Analyse gelöst.

### 8.2.6 Vernetzung mit Weinsäure

0,2 g hydrolysiertes PHB-HV (8.2.5) wurde mit 10 Gew.-% Weinsäure versetzt und bei 160 °C 1 h lang im Ofen gelagert. Ein analoger Versuch mit hydrolysiertem PHB-HV und Weinsäure (10 Gew.-%) wurde im Vakuumschrank bei 140 °C, für 1 h durchgeführt.

### 8.2.7 Vernetzung mit TVC

0,2 g PHB-HV wurden mit 0,3 Äquivalenten 1,2,4-Trivinylcyclohexan (über Molsieb getrocknet) in trockenem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  unter Rückflussbedingungen umgesetzt und der Reaktionsverlauf mit  $^1\text{H-NMR}$  verfolgt. Das Polymer wurde zur Aufarbeitung in kaltem Ethanol gefällt und für die  $^1\text{H-NMR}$ -Analyse in  $\text{CDCl}_3$  gelöst.

### 8.2.8 Reaktion mit LDA

1 g PHB-HV wurde in THF unter Argonatmosphäre dispergiert. Das Reaktionsgemisch wurde mit Aceton / Trockeneis auf -78 °C gekühlt.

Es wurde (1 mL, 1 Äquivalent) Lithiumdiisopropylamid LDA (2 mol/L) zugegeben, nach 30 min wurde (1 Äquivalent) 1,6-Dibromhexan zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und aufgearbeitet. Dazu wurde der Reaktionsansatz in 100 mL einer wässrigen  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung (20 g/L) geleert. Das Copolymer wurde mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert, die vereinten organischen Phasen mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösemittel am Rotavapor abgezogen. Das getrocknete Produkt wurde in  $\text{CDCl}_3$  für die  $^1\text{H-NMR}$ -Analyse gelöst.

### **8.3 Sol/Gel-Analyse der photochemischen Vernetzung**

Das in Dichlormethan gelöste PHB-HV ( $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) wurde mit je 1, 2, 3, 4 und 5 Gew.-% Photoinitiator 2,6-Bis(4-azidobenzyliden)-4-methyl-cyclohexanon versetzt. Auf  $\text{CaF}_2$ -Plättchen wurde mittels Spincoating eine dünne Schicht (einige  $\mu\text{m}$ ) dieser Lösung aufgebracht. Das verwendete Spincoating-Programm war: 20 s, speed 100 ( $\times 10$ ) rpm, ACCN ( $\times 100$ ) rpm/s.

Die beschichteten Substrate wurden danach unterschiedlich lange belichtet. Die genauen Belichtungszeiten sind am Ende des Kapitels zu finden. Dazu wurden die Substrate in eine Glaskammer eingebracht, die mit Stickstoff geflutet wurde. Die Belichtung erfolgte mittels Quecksilberlampe (EFOS Novacure) bei  $3000 \text{ mW}/\text{cm}^2$ , wobei der Lichtleiter in einem Abstand von 7 cm positioniert wurde. Ein Substrat wurde als Referenz verwendet und deshalb nicht belichtet. Bei den belichteten Plättchen wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

Um die Veränderungen in der Struktur des Polymers zu verfolgen wurde ein IR-Spektrum (*Perkin Elmer*, Spectrum one) aufgenommen. Die Substrate wurden dann für 20 Minuten in Dichlormethan entwickelt und danach an Luft getrocknet. Anschließend wurde für den Vergleich der Polymerfilme erneut ein IR-Spektrum gemessen. Aus dem Unterschied in der Absorption der Esterbande bei  $1724 \text{ cm}^{-1}$  konnte der Anteil der unlöslichen Fraktion laut Gleichung (10) berechnet werden (Tab. 13-Tab. 17).

**Tab. 13:** Berechnete Vernetzungsgrade der Versuchsreihen der photochemischen PHB-HV Vernetzung mit 1 Gew.-% Photoinitiator.

<b>1 Gew.-% Photoinitiator</b>					
<b>Zeit [s]</b>	<b>Vernetzungs- grad 1 [%]</b>	<b>Vernetzungs- grad 2 [%]</b>	<b>Vernetzungs- grad 3 [%]</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Standard- abweichung</b>
0	4,18358	4,16006	3,41520	3,91961	0,43699
5	14,10562	11,13961	12,11538	12,45354	1,51164
10	46,81836	51,10949	36,15465	44,69417	7,70039
15	--	49,24078	49,07605	49,15842	0,11648
20	68,26019	67,05998	55,28157	63,53391	7,17189
25	63,24845	59,04954	62,06300	61,45366	2,16476
30	72,56098	70,43391	64,23383	69,07624	4,32641
45	70,87452	69,25543	63,05402	67,72799	4,12794
60	73,57631	69,25543	68,49093	70,44089	2,74213
75	64,28300	65,65897	67,17121	65,70439	1,44464
90	62,73023	68,60254	60,75447	64,02908	4,08207
120	64,75069	60,91954	54,90522	60,19182	4,96291
180	67,27273	62,02940	51,94805	60,41673	7,78858

**Tab. 14:** Berechnete Vernetzungsgrade der Versuchsreihen der photochemischen PHB-HV Vernetzung mit 2 Gew.-% Photoinitiator.

<b>2 Gew.-% Photoinitiator</b>					
<b>Zeit [s]</b>	<b>Vernetzungs- grad 1 [%]</b>	<b>Vernetzungs- grad 2 [%]</b>	<b>Vernetzungs- grad 3 [%]</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Standard- abweichung</b>
0	2,27774	-	-	-	-
3	4,14828	5,62925	9,06217	2,52073	2,52073
7	37,46984	39,84610	38,43793	1,19490	1,19490
10	53,31034	51,76903	56,56218	2,44692	2,44692
13	68,55062	63,74605	67,04158	2,45702	2,45702
17	72,85567	-	70,51741	1,65340	1,65340
20	69,92764	74,29448	73,74710	2,37897	2,37897
30	74,59493	74,29448	72,34664	1,22060	1,22060
60	78,80503	79,03531	85,87535	4,01723	4,01723
180	76,37771	80,20145	73,47002	3,37609	3,37609

**Tab. 15:** Berechnete Vernetzungsgrade der Versuchsreihen der photochemischen PHB-HV Vernetzung mit 3 Gew.-% Photoinitiator.

<b>3 Gew.-% Photoinitiator</b>					
<b>Zeit [s]</b>	<b>Vernetzungs- grad 1 [%]</b>	<b>Vernetzungs- grad 2 [%]</b>	<b>Vernetzungs- grad 3 [%]</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Standard- abweichung</b>
0	3,53805	-	-	-	-
3	33,99320	-	35,92325	34,95823	0,96503
7	67,09416	67,04768	63,88330	66,00838	1,84052
10	67,84523	68,02804	67,32752	67,73360	0,36336
13	85,56735	80,60201	83,73901	83,30279	2,51125
17	87,91774	80,46236	82,74625	83,70878	3,81975
20	87,41678	85,40475	87,82639	86,88264	1,29617
30	81,26441	77,72184	76,74419	78,57681	2,37830
60	78,80503	79,03531	85,87535	81,23856	4,01723
180	85,35403	82,93676	88,87531	85,72203	2,98633

**Tab. 16:** Berechnete Vernetzungsgrade der Versuchsreihen der photochemischen PHB-HV Vernetzung mit 4 Gew.-% Photoinitiator.

<b>4 Gew.-% Photoinitiator</b>					
<b>Zeit [s]</b>	<b>Vernetzungs- grad 1 [%]</b>	<b>Vernetzungs- grad 2 [%]</b>	<b>Vernetzungs- grad 3 [%]</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Standard- abweichung</b>
0	4,34783	-	-	-	-
5	46,24431	54,60889	60,17998	53,67772	7,01434
10	68,48816	68,41584	77,27969	71,39457	5,09680
15	81,19850	77,32749	75,39683	77,97427	2,95442
20	77,98577	92,03246	83,89831	84,63885	7,05256
30	83,19423	87,54196	89,34426	86,69349	3,16159
45	90,65666	88,51530	86,27940	88,48379	2,18880
60	87,56345	89,59162	86,05244	87,73584	1,77587
90	85,81056	84,30296	84,85395	84,98916	0,76284
180	84,05594	82,27802	80,45977	82,26458	1,79812

**Tab. 17:** Berechnete Vernetzungsgrade der Versuchsreihen der photochemischen PHB-HV Vernetzung mit 5 Gew.-% Photoinitiator.

5 Gew.-% Photoinitiator					
Zeit [s]	Vernetzungs- grad 1 [%]	Vernetzungs- grad 2 [%]	Vernetzungs- grad 3 [%]	Mittelwert	Standard- abweichung
0	3,44045	-	-	-	-
5	75,72079	77,84694	82,34194	78,63656	3,38046
10	78,10056	77,95738	79,29275	78,45023	0,73314
15	83,82408	87,20843	88,16092	86,39781	2,27923
20	90,87888	87,53754	86,09765	88,17136	2,45282
30	93,21284	83,69883	85,58626	87,49931	5,03725
45	84,81910	83,04833	81,32705	83,06482	1,74608
60	83,54290	86,40562	81,53790	83,82881	2,44642
90	82,24937	80,69014	79,61739	80,85230	1,32346
180	79,78571	82,03704	-	80,91138	1,59193

**Tab. 18:** Berechnung von  $v_q$  und  $v_p$  aus den Werten der Charlesby-Pinner Auftragungen.

$v_p/v_q$ Ordinatenabschnitt	k	$k^{-1}$	$v_q = k^{-1} / P_n$	$v_p$
0,75685	0,0894	11,1856823	0,0093214	0,0070549
0,6333	0,06772	14,7666864	0,01230557	0,00779312
0,40107	0,05468	18,2882224	0,01524019	0,00611238
1,04402	0,02784	35,9195402	0,02993295	0,0312506
1,08583	0,01244	80,3858521	0,06698821	0,07273781

$P_n = 1200$  (laut GPC-Analyse).

### 8.3.1 GPC – Analysen

Eine Lösung von PHB-HV ( $50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) wurde mit 3 Gew.-% Photoinitiator 2,6-Bis(4-azidobenzyliden)-4-methyl-cyclohexanon in Dichlormethan versetzt, und auf  $\text{CaF}_2$ -Plättchen mittels Spincoating in Form eines Filmes aufgebracht. Das verwendete Spincoating-Programm war: 20 s, speed 100 (x10) rpm, ACCN (x100) rpm/s.

Die Anzahl und Belichtungsdauer der beschichteten Substrate ist Tab. 19 zu entnehmen.

Die Belichtung erfolgte mit Hilfe einer Quecksilberlampe (EFOS Novacure) bei 3000 mW/cm<sup>2</sup>, wobei der Lichtleiter in einem Abstand von 7 cm von der Glas-kammer, mit eingeleitetem Stickstoffstrom, positioniert wurde.

Alle Substrate, die der gleichen Bestrahlungsdauer ausgesetzt wurden, wurden gemeinsam in einem Kolben für 20 Minuten in Dichlormethan entwickelt und danach aus dem Kolben entfernt. Das Lösungsmittel wurde am Rotavapor abgezogen und das verbleibende, getrocknete Polymer mit 1 mL reinem CHCl<sub>3</sub> gelöst und mittels GPC analysiert.

Die Anzahl der erforderlichen CaF<sub>2</sub> Plättchen für eine für die GPC-Analyse notwendige Minimal-Konzentration von 6 g·L<sup>-1</sup> nach dem Entwicklungsschritt, also der löslichen Fraktion, wurde berechnet. Ausgehend von einer durchschnittlichen Film - Masse von 2,1 mg auf einem mit PHB-HV beschichteten CaF<sub>2</sub> Plättchen und den aus vorhergehenden Experimenten erhaltenen Vernetzungs-graden für die jeweilige Belichtungsdauer, konnte die Zahl der Plättchen (Tab. 19) errechnet werden.

**Tab. 19:** Berechnung der Anzahl der notwendigen CaF<sub>2</sub>-Plättchen um aus der löslichen Fraktion eine Konzentration von 6 g·L<sup>-1</sup> für die jeweilige Belichtungsdauer zu erhalten.

Belichtungs-zeit [s]	% vernetzt	% löslich	Anzahl Plättchen
0	3,5	96,5	3
3	47,6	52,4	5
10	67,7	32,3	9
30	78,6	21,4	13
60	81,2	18,8	15
180	85,7	14,3	20

Die Ergebnisse der GPC-Analyse sind unter 4.2.2 zu finden.

### 8.3.2 Photolithographie

Auf zwei mit ITO (Indium Tin Oxide) und Chrom beschichteten Glassubstraten wurde durch Spincoating ein Polymer-Bisazid-Film aufgebracht. Dazu wurden 0,5 mL Photoinitiatorlösung (10 mg/mL) zu 5 mL PHA-Lösung (50 mg/mL) zugegeben, als Lösungsmittel wurde Dichlormethan verwendet. Die verwendete Einstellungen für das Spincoaten der PHA-Bisazid – Lösung waren: Time 20 s, speed 100 (x10) rpm, ACCN (x100) rpm/s.

Für die anschließende Belichtung wurden die beschichteten Substrate mit den entsprechenden Quarzmasken in eine Glaskammer eingebracht, die mit Stickstoff geflutet wurde. Die Belichtung mittels Quecksilberlampe (*EFOS Novacure*) erfolgte für 20 Sekunden bei  $3000 \text{ mW/cm}^2$ , wobei sich der Lichtleiter im Abstand von 7 cm befand. Die Rückpräparation der Proben erfolgte in mehreren Schritten, wobei nach jedem Schritt das Ergebnis mittels Mikroskopaufnahme bei 50-facher Vergrößerung dokumentiert wurde. Die verwendete Ammonium-Cer-Nitrat-Lösung wurde durch Einwiegen von 2 g Ammonium-Cer-Nitrat und Lösen in 20 mL destilliertem Wasser selbst hergestellt. Das Spülen mit Dichlormethan nach der Entfernung der Chromschicht war notwendig, um die Verkohlung des Photolacks durch die Schwefelsäure im darauf folgenden Schritt zu verhindern. Ein Schema der Vorgehensweise, sowie das Resultat in Form einer Abbildung sind unter Punkt 4.2.5 zu finden.

## **8.4 Formkörperherstellung und mechanische Charakterisierung**

Durch Ändern der Geräteparameter am Extruder wurde versucht, möglichst optimale Schulterstäbe herzustellen, um deren E-Modul und andere Parameter mittels Zugversuchen bestimmen lassen zu können.

Ein Compounder/Doppelschneckenextruder (*HAAKE MiniLab Micro Compounder*) der Firma *Thermo Electron Corporation* wurde für die Extrusionsversuche mit dem PHB Copolymer (18,25% HV) verwendet. Die jeweils verwendete Füllmenge betrug maximal 5 g. Die Schnecken wurden gleichläufig gefahren. Die Prüfkörper wurden in einer „DSM Research 3.5 mL Injection Moulding Machine“ spritz gegossen. Der Pneumatikdruck war auf 5 bar begrenzt.

Um möglichst optimale Schulterstäbe zu erhalten, wurde nach Variation der Parameter am Extruder folgendes eingestellt: Umdrehungszahl der gleichläufigen Schnecken:  $100 \text{ min}^{-1}$ , wobei beim PHB Homopolymer kurz vorm Auslassen in den Zylinder die Umdrehungszahl auf  $150 \text{ min}^{-1}$  erhöht wurde.

**Tab. 20:** Temperatureinstellungen für die Herstellung der Schulterstäbe.

	PHB Homopolymer	PHB Copolymer (18,25% HV)
	Temperatur [°C]	
<b>Extruder</b>	175	160
<b>Zylinder</b>	167	162
<b>Form</b>	116	60

Für die Verarbeitung des Polymers wurde das Pulver bzw. das Granulat über einen Trichter dem Gerät zugeführt. Das Polymer wurde mehrfach im Gerät zyklert, bis es die gewünschte Homogenität und Viskosität besaß. Durch eine Düse konnte das verarbeitete Polymer extrudiert werden, wozu es in das Reservoir überführt wurde, woraus es in die vorgeheizte Pressform gedrückt werden konnte. Direkte Auslassversuche (ohne Form) gaben Aufschluss über den Zustand des Polymers im Inneren des Extruders.

Die Bestimmung der Zugeigenschaften der spritzgegossenen Schulterstäbe (Typ 1A laut EN ISO 527-2) wurden im Transfercenter für *Kunststofftechnik GmbH* in Wels (Prüfbericht 239 10) in Anlehnung an ISO 527 ermittelt.

Es wurden 2 Probenserien mit je 5 Formkörpern im Zugversuch charakterisiert.

**Tab. 21:** Verwendete Prüfeinrichtungen für den Zugversuch.

Prüfung	Prüfmittel	Hersteller	Type
Zugversuch / Biegeversuch	Material Prüfmaschine Z020	Zwick/Roell	BTC-FR020TH.A50
	Kraftaufnehmer 20kN	Zwick/Roell	BTC-LC020kn.G02
	Kraftaufnehmer 500N	Zwick/Roell	BTC-LC0500N.F02
	Extensometer	Zwick/Roell	BTC-EXMACRO.001
	Temperierkammer	Zwick/Roell	BW91255
	Material Prüfmaschine ZMART.PRO	Zwick/Roell	BZ1-MM010M1.UT03
	Kraftaufnehmer 10kn	Zwick/Roell	BU3131.00.00_tC
	Extensometer	Zwick/Roell	BZ1-EXZW023

Die Proben wurden entsprechend ISO 291 konditioniert.

Bei der zweiten Probenserie wurde eine Probe nicht in die Auswertung einbezogen, weil eine erkennbare Fehlstelle am Prüfkörper war.

**Tab. 22:** Verwendete Prüfparameter für den Zugversuch.

<b>Projektnummer</b>	239 10	<b>Material</b>	Poly-(hydroxybutyrat)
<b>Prüfer</b>	GOS	<b>Art der E-Modulermittlung</b>	Regression
<b>Prüfnorm</b>	ISO 527-2/1BA/1	<b>Prüfmaschine</b>	Zwick/Roell Z020
<b>Probenform</b>	In Anl. ISO 527 Typ 1 BA	<b>Maschinendaten</b>	Steuerung WN: 154423
<b>Konditionierung</b>	ISO 291		Traverse WN: 154423
<b>Prüftemperatur</b>	23 °C		Kraft WN: 154424 20 kN
<b>Geschwindigkeit E-Modul</b>	1 mm/min		Makro-Wegaufnehmer WN: 154426
<b>Prüfgeschwindigkeit</b>	1 mm/min		
<b>Einspannlänge</b>	60 mm		

### 8.4.1 Zugversuch-Ergebnisse Probenserie 1

**Tab. 23:** Ergebnisse des Zugversuchs der Probenserie 1.

Nr	Probendicke a0 [mm]	Probenbreite b0 [mm]	Et [GPa]	$\sigma_M$ [MPa]	$\epsilon_M$ [%]	$\sigma_B$ [MPa]	$\epsilon_B$ [%]
1	1,56	4,90	2,99	32,42	3,06	22,22	5,43
2	1,57	4,92	3,12	32,34	3,12	19,85	6,82
3	1,55	4,88	2,88	33,64	3,18	26,19	5,68
4	1,55	4,91	2,97	33,33	3,19	26,67	5,32
5	1,56	4,91	3,18	32,62	3,09	27,76	6,55

**Tab. 24:** Statistik des Zugversuchs der Probenserie 1.

Serie n = 5	Probendicke a0 [mm]	Probenbreite b0 [mm]	Et [GPa]	$\sigma_M$ [MPa]	$\epsilon_M$ [%]	$\sigma_B$ [MPa]	$\epsilon_B$ [%]
x	1,558	4,904	3,03	32,87	3,13	24,54	5,96
s	0,008367	0,01517	0,12	0,58	0,05	3,35	0,68

Die Ermittlung des E-Moduls erfolgt in einem Schritt mit der Ermittlung der Zugfestigkeit durch Umschalten der Prüfgeschwindigkeit.

## 8.4.2 Zugversuch-Ergebnisse Probenserie 2

**Tab. 25:** Ergebnisse des Zugversuchs der Probenserie 2.

Nr	Probendicke a0 [mm]	Probenbreite b0 [mm]	Et [MPa]	$\sigma_M$ [MPa]	$\epsilon_M$ [%]	$\sigma_B$ [MPa]	$\epsilon_B$ [%]
a	1,56	4,89	2,94	32,85	3,15	24,11	7,26
b	1,54	4,87	2,98	32,34	2,52	29,10	2,76
c	1,56	4,89	2,96	33,26	3,18	27,61	5,09
d	1,56	4,88	3,00	33,32	3,35	27,57	4,66

**Tab. 26:** Statistik des Zugversuchs der Probenserie 2.

Serie n = 4	Probendicke a0 [mm]	Probenbreite b0 [mm]	Et [MPa]	$\sigma_M$ [MPa]	$\epsilon_M$ [%]	$\sigma_B$ [MPa]	$\epsilon_B$ [%]
x	1,56	4,885	2,97	33,34	3,23	26,88	5,50
s	0,000	0,005774	0,025	0,45	0,09	1,87	1,18

## 9 Literaturverzeichnis

- <sup>1</sup> [www.tecson.de](http://www.tecson.de) (am 09.08.2010).
- <sup>2</sup> Skriptum zur Vorlesung Biotechnology TC (SS 2009) von Prof. Braunegg, TU Graz.
- <sup>3</sup> Doi Y., Steinbüchel A., Biopolymers, Polyesters I, Biological Systems and Biotechnological Production **2002**, Volume 3a, Wiley-VCH Weinheim.
- <sup>4</sup> Koller M., Hesse P., Bona R., Kutschera C., Atlic A., Braunegg G., *Macromol. Biosci.* **2007**, 7, 218-226.
- <sup>5</sup> Nonato R.V., Mantelatto P.E., Rossell C.E.V., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, 57, 1-5.
- <sup>6</sup> Koller M., Bona R., Chiellini E., Fernandes E. G., Horvat P., Kutschera C., Hesse P., Braunegg G., *Bioresource Technol.* **2008**, 99, 4854-4863.
- <sup>7</sup> Braunegg G., Lefebvre G., Genser K. F., *J. Biotechnol.* **1998**, 65, 127-161.
- <sup>8</sup> Lemoigne, M., *Bull Soc. Chem. Biol.* **1926**, 8, 770-782.
- <sup>9</sup> Anderson A. J., Dawes E. A., *Microbiol. Reviews* **1990**, 54, 450-472.
- <sup>10</sup> Steinbüchel A., Valentin H. E., *FEMS Microbiol. Lett.* **1995**, 128, 219-228.
- <sup>11</sup> Cornibert J., Marchessault R. H., *J. Mol. Biol.* **1972**, 71, 735-756.
- <sup>12</sup> Das Bild wurde zur Verfügung gestellt von Dr. Elisabeth Ingolic, FELMI-ZFE Graz.
- <sup>13</sup> [www.inhabitat.com](http://www.inhabitat.com) (am 03.08.2010).
- <sup>14</sup> Lutz J. F., Börner H. G., *Prog Polym. Sci.* **2008**, 33, 1-39.
- <sup>15</sup> Poirier Y., Nawrath C., Somerville C., *Biotechnology*, **1995**, 13, 142-150.
- <sup>16</sup> Stanier R. Y., Doudoroff M., Kunisawa R., Contopoulou R., *Proc. N. A. S.* **1959**, 45, 1246.
- <sup>17</sup> Taguchi S., Matsusaki H., Matsumoto K., Takase K., Taguchi K., Doi Y., *Polym. Int.* **2002**, 51, 899-906.
- <sup>18</sup> Philip S., Keshavarz T., Roy I., *J. Chem. Technol. Bioechnol.* **2007**, 83, 233-247.
- <sup>19</sup> Gross R. A., DeMello C., Lenz R. W., Brandle H., Fuller R. C., *Macromolecules* **1989**, 22, 1106-1115.
- <sup>20</sup> Ashby R. D., Cromwick A. M., Foglia T. A., *Int. J. Biol. Macromol.* **1998**, 23, 61-72.
- <sup>21</sup> Preusting H., Nijenhuis A., Witholt B., *Macromolecules* **1990**, 23, 4220-4224.

- <sup>22</sup> Ballistreri A., Montaudo G., Impallomeni G., Lenz R. W., Kim Y. B., Fuller R. C., *Macromolecules* **1990**, *23*, 5059-5064.
- <sup>23</sup> Chen G.-Q., Wu Q., *Biomaterials* **2005**, *26*, 6565-6578.
- <sup>24</sup> Kim D. Y., Kim H. W., Chung M. G., Rhee Y. H., *J. Microbiol.* **2007**, *45*, 87-97.
- <sup>25</sup> Siegmund F., Veit D., Gries T., *Chem. Unserer Zeit* **2009**, *43*, 152-158.
- <sup>26</sup> Holmes P. A., *Phys. Technol.* **1985**, *16*, 32.
- <sup>27</sup> Holmes P. A., *Developments in Crystalline Polymers* **1988**, *2*, 1-65.
- <sup>28</sup> Hazer B., Steinbüchel A., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, *74*, 1-12.
- <sup>29</sup> Ha S.-W., Wintermantel E., Maier G., *Medizintechnik Life Science Engineering, Part VI, Prozesstechnologien für medizintechnische Entwicklungen 2008* Springer Verlag Berlin, 5. Auflage, 495-530; *ibid.* 557-575; *ibid.* 691-695.
- <sup>30</sup> Di Lorenzo M. L., Sajkiewicz P., Gradys A., La Pietra P., *e-Polymers* **2009**, *27*, 1-12.
- <sup>31</sup> Grassie N., Murray E. J., Holmes P. A., *Polym. Degrad. Stab.* **1984**, *6*, 47-61; *ibid.* 95-103; *ibid.* 127-134.
- <sup>32</sup> Ariffin H., Nishida H., Shirai Y., Hassan M. A., *Polym. Degrad. Stab.* **2008**, *93*, 1433-1439.
- <sup>33</sup> [http://lamp.tu-graz.ac.at/~nanoanal/de/sub\\_methoden.php?cms\\_id=M44](http://lamp.tu-graz.ac.at/~nanoanal/de/sub_methoden.php?cms_id=M44) (am 02.07.2010)
- <sup>34</sup> Shishatskaya E. I., Volova T. G., *J. Mater. Sci.: Mat. Med.* **2004**, *15*, 915-923.
- <sup>35</sup> [www.metabolix.com](http://www.metabolix.com) (am 05.08.2010).
- <sup>36</sup> Wang J., Yu H. Q., *Appl. Microbiol. Biot.* **2007**, *75*, 871-878.
- <sup>37</sup> Lenz R. W., Marchessault R. H., *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 1-8.
- <sup>38</sup> Scholz A., *Dissertation* **2008**, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald.
- <sup>39</sup> Arkin A. H., Hazer B., *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 1327-1335.
- <sup>40</sup> De Koning G. J. M., Van Bilsen H. M. M., Lemstra P. J., Hazenberg W., Witholt B., Preusting H., Van der Galien J. G., Schirmer A., Jendrossek D., *Polymer* **1994**, *35*, 2090-2097.
- <sup>41</sup> Dufresne A., Reche L., Marchessault R. H., Lacroix M., *Int. J. Biol. Macromol.* **2001**, *29*, 73-82.
- <sup>42</sup> Gagnon, K. D., Lenz R.W., Farris R. J., Fuller R. C., *Polymer* **1994**, *35* (20), 4358-4367.
- <sup>43</sup> Scherer T. M., Fuller R. C., Lenz R. W., *J. Polym. Environ.* **1994**, *2*, 263-269.

- <sup>44</sup> Kim S.N., Shim S. C., Kim D. Y., Rhee Y. H., Kim Y. B., *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, *22*, 1066-1071.
- <sup>45</sup> Lee M. Y., Park W. H., *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, *201*, 2771-2774.
- <sup>46</sup> Hazer B., Demirel S. I., Borcakli M., Eroglu M. S., Cakmak M., Erman B., *Polym. Bull.* **2001**, *46*, 389-394.
- <sup>47</sup> Aust N., Parth M., Lederer K., *Macromol. Symp.* **2002**, *181*, 427-434.
- <sup>48</sup> Bergmann A., Teßmar J., Owen A., *J. Mater. Sci.* **2007**, *42*, 3732-3738.
- <sup>49</sup> Havard J. M., Frahet J. M. J., Pasini D., Mar B., Yamada S., Medeiros D., Willson C. G., *Proc SPIE* **1997**, *3049*, 437.
- <sup>50</sup> Aoki H., Tokuda T., Nagasaki Y., Kato M., *Macromol. Rapid Commun.* **1997**, *18*, 3.
- <sup>51</sup> Horspool W., Armesto D., *Organic Photochemistry - A comprehensive Treatment* **1992**, Ellis Horwood, 396-403.
- <sup>52</sup> Ashby R. D., Foglia T. A., Solaiman D. K. Y., Liu C.-K., Nunez A., Eggink G., *J. Biol. Macromol.* **2000**, *27*, 355-361.
- <sup>53</sup> Park W. H., Lenz R. W., Goodwin S., *Polymer Chemistry* **1998**, *36*, 2389-2396.
- <sup>54</sup> Morikawa H., Marchessault R. H., *Can. J. Chem.* **1981**, *59*, 2306-2310.
- <sup>55</sup> Melchior M., Keul H., Höcker H., *Macromolecules* **1996**, *29*, 6442-6451.
- <sup>56</sup> Nguyen S., Yu G., Marchessault R. H., *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 219-224.
- <sup>57</sup> Aoyagi Y., Yamashita K., Doi Y., *Polym. Degrad. Stab.* **2002**, *76*, 53-59.
- <sup>58</sup> Ivan B., Nagy T. T., Kelen T., Turcsanyi B., Tüdös F., *Polym. Bull.* **1980**, *2*, 83-88.
- <sup>59</sup> Olejnicwk J., Rosiak J., Charlesby A., *Radiat. Phys. Chem.* **1991**, *38*, 113-118.
- <sup>60</sup> [http://www.thermoinformatics.com/com/CMA/Images/Image\\_10815.jpg](http://www.thermoinformatics.com/com/CMA/Images/Image_10815.jpg) (am 15.07.2010).
- <sup>61</sup> <http://www.thermoinformatics.com> (am 16.07.2010).
- <sup>62</sup> Johannaber F., Michaeli W.: *Handbuch Spritzgießen* **2002**, 1. Auflage, Carl Hanser Verlag München.
- <sup>63</sup> Fasl H., Ph.D. Thesis at Graz University of Technology **2007**.
- <sup>64</sup> [http://www.xplore-together.com/5\\_5ml\\_injection.htm](http://www.xplore-together.com/5_5ml_injection.htm) (am 07.07.2010)
- <sup>65</sup> Grellmann W., Seidler S., *Kunststoffprüfung* **2005**, 1. Auflage, Carl Hanser Verlag München, 119.
- <sup>66</sup> DIN EN ISO 527-1, 1996, Kunststoffe - Bestimmung der Zugeigenschaften – Teil 1: Allgemeine Grundsätze.

- <sup>67</sup> DIN EN ISO 527-2, 1996, Kunststoffe - Bestimmung der Zugeigenschaften – Teil 2: Prüfbedingungen für Form- und Extrusionsmassen.
- <sup>68</sup> Grellmann W., Seidler S., *Kunststoffprüfung* **2005**, 1. Auflage, Carl Hanser Verlag München, 15-26.
- <sup>69</sup> Jansen K. M. B., *Int. Polymer Process* **1998**, *13*, 309-317.
- <sup>70</sup> Grellmann W., Seidler S., *Kunststoffprüfung* **2005**, 1. Auflage, Carl Hanser Verlag München, 108-127.
- <sup>71</sup> Nonato R.V., Mantelatto P.E., Rossell C.E.V., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, *57*, 1-5.
- <sup>72</sup> Schwetlick K., *Organikum* **2001**, 21. Auflage, Wiley-VCH Weinheim.
- <sup>73</sup> Fei B., Chen C., Chen S., Peng S., Zhuang Y., An Y., Dong L., *Polym. Int.* **2004**, *53*, 937-943.
- <sup>74</sup> Rupp B., Ebner C., Rossegger E., Slugovc C., Stelzer F., Wiesbrock F., *Green Chem.*, DOI:10.1039/C0GC00066C.
- <sup>75</sup> Doi Y., Kunioka M., Nakamura Y., Soga K., *Macromolecules* **1986**, *19*, 2860-2864.
- <sup>76</sup> Gottlieb H. E., Kotlayr V., Nudelman A., *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512-7515.