

# Ladungsbildung und Strukturänderungen an Cellulose- und Kollagenschichten in wässrigen Elektrolytlösungen

*Charging and swelling of cellulose and collagen in aqueous environments are of highest interest with respect to the performance of cellulose and collagen based products and applications. To unravel the interplay between ionization and structural features of the biopolymers we compared reconstituted cellulose and collagen thin films based on a determination of the electrical charging and swelling in aqueous electrolyte solutions.*

*The acidic characteristics and the swelling of the cellulose layer were not influenced by the ionic strength but significantly influenced by the type of electrolyte. The pH dependence of the Donnan potential, reflecting the ionization of carboxylic acid groups within the cellulose films, was found to be significantly different from the related trend of the streaming current which reflects the characteristics of the topmost surface of the layers: While carboxylic acid groups on the surface of the films dissociate as isolated functionalities the electrostatic interactions of ionized groups within the cellulose layers cause an incomplete dissociation (pK shift) of the carboxylic acid and a layer expansion (swelling) in the alkaline pH range.*

*The acid base behaviour of collagen I was found to be strongly influenced by the ionic strength in KCl as well as in CaCl<sub>2</sub> solutions. An increase of the ionic strength with KCl from 10<sup>-4</sup> mol·l<sup>-1</sup> to 10<sup>-2</sup> mol·l<sup>-1</sup> shifts the isoelectric point (IEP) of the protein from pH 7.5 to 5.3. However, a similar increase of the ionic strength in CaCl<sub>2</sub> solutions shifts the IEP from 7.5 to above pH 9. Enhanced thermal stability and conformation with increasing ionic strength was observed by DSC and CD in both electrolyte systems.*

*Better screening of charged residues and the formation of salt bridges are assumed to cause the stabilization of collagen I with increasing ionic strength in both electrolyte systems. Altered accessibility of charged moieties and preferential adsorption of hydroxide ions onto intrinsically uncharged sites in KCl solutions and calcium binding to negatively charged carboxylic acid moieties in CaCl<sub>2</sub> solutions are concluded to shift the IEP and influence the conformational stability of the protein.*

## Einleitung

Die industrielle Bedeutung von Cellulose und Kollagen ist aus der vielfältigen und massenhaften Applikation der auf diesen Biopolymeren beruhenden Materialien in der Papier- und Textilherstellung, der Lederproduktion, und auch in anspruchsvollen biomedizinischen Applikationen, wie z.B. *Drug-delivery*-Anwendungen [1-4], Hautersatz-/Implantatmaterialien [5-10] und zur Blutreinigung bei Nierenversagen (Hämodialyse) [11-14], sofort ersichtlich.

Das Ziel des mit diesem Bericht dokumentierten Projekts bestand vor diesem Hintergrund in der Untersuchung der Grenzflächeneigenschaften von Cellulose- und Kollagenoberflächen in wässrigen Systemen. Im Rahmen einer Kooperation zwischen dem IPF Dresden und der BASF AG in Ludwigshafen sollten dazu Verfahren zur Herstellung von Modelloberflächen aus Cellulose und Kollagen etabliert und mit Hilfe der am IPF entwickelten elektrokinetischen Mikrosplätzelle charakterisiert werden.

## Keywords

cellulose  
collagen  
model layers  
electrical charging  
swelling  
conformation  
surface conductivity  
Donnan potential

## Bearbeiter

U. Freudenberg  
R. Zimmermann  
S. Zschoche  
P. Welzel  
F. Simon  
M. Müller  
R. Schulze  
A. Janke  
K. Salchert  
T. Pompe  
C. Werner

## Förderer/Kooperation

S. H. Behrens, Polymer Physics  
T. L. Taeger, Innovation Leather  
K. Schmidt, Performance  
Chemicals for Detergents and  
Formulators Europe  
BASF Aktiengesellschaft

Sowohl aus Cellulose als auch aus Kollagen konnten definierte Modelloberflächen erzeugt werden [15, 16], die durch Anwendung komplementärer grenzflächenanalytischer Verfahren die Aufklärung von Ladungsbildungsprozessen und Strukturänderungen ermöglichten. Zusammenhänge zwischen Ladungsbildungsprozess und Quellung wurden jeweils in verschiedenen ein- und mehrwertigen Elektrolytsystemen analysiert. Neben den experimentellen Herausforderungen stellte auch die quantitative Interpretation der Messdaten zu den Ladungsbildungsprozessen an den oft stark quellfähigen Biopolymer-schichten eine wichtige Aufgabe im Rahmen des Projektes dar. Herkömmliche Ansätze zur Charakterisierung der Ladungsbildung gehen von nicht quellfähigen und glatten („elektrokinetisch idealen“) Oberflächen mit dem Zetapotenzial (Potenzial der diskreten Scherebene) als zentrale Größe zur Beschreibung der Ladung an derartigen Grenzflächen aus. Bei der Untersuchung von stark quellenden und teilweise durchströmten Biopolymer-schichten ist oft keine diskrete Scherebene im elektrokinetischen Experiment vorhanden. Aus diesem Grund wird neben der Diskussion des Strömungstrom-Druckgradientens, welcher Informationen aus dem Randbereich der quellbaren Biopolymer-schichten liefert, die Grenzflächenleitfähigkeit bestimmt. Dies ist eine Überschussleitfähigkeit, die aus der Anreicherung von mobilen Ladungsträgern im Bereich der Phasengrenze resultiert und unabhängig von der Existenz einer diskreten Scherebene im elektrokinetischen Experiment ausgewertet werden kann. Durch die Bestimmung der Grenzflächenleitfähigkeit ist die Beschreibung der Grenzflächenladung von Gelschichten mit einer Spezies von ionisierbaren Gruppen (z. B. Carboxylgruppen der Cellulose-schicht) anhand des Donnan-Gleichgewichtes nach dem theoretischen Ansatz von Dukhin u.a. [26] möglich.

### Präparation der Cellulosemodellschichten

In der Literatur beschriebene Verfahren zur Erzeugung von Cellulosemodellschichten [17-22] sind durch die fehlende kovalente Anbindung der Cellulose an die Träger limitiert. Aus diesem Grund wurde eine Prozedur zur Immobilisierung von Cellulosemodellschichten auf anorganischen Substraten (z.B. Glaträgern oder oxidierten Siliciumwafern) durch kovalente Verankerung an reaktiven Polymerzwichenschichten entwickelt (Abb. 1)

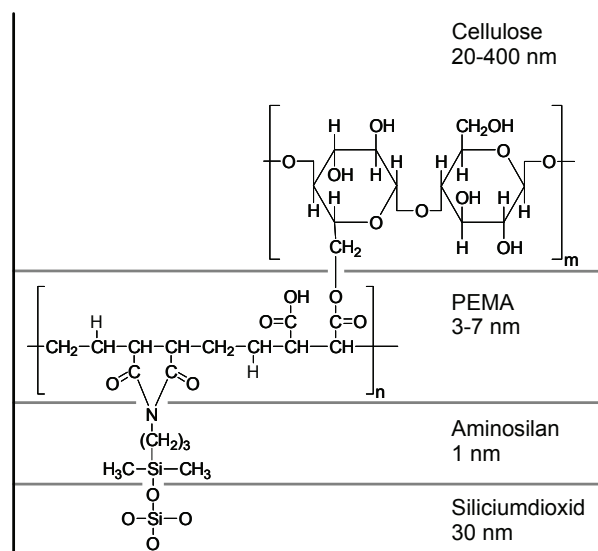


Abb. 1:  
Schematischer Aufbau der  
Cellulosemodellschichten

Die reaktive Polymerzwischen-schicht besteht aus einem streng alternierenden Copolymer von Maleinsäureanhydrid und Ethylen (Poly(ethylen-*alt*-maleinsäureanhydrid),  $M_w = 125\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , Sigma, München, PEMA), welches kovalent an aminfunktionalisierte Substratoberflächen gebunden wird [20].

Die Präparation der Cellulosemodellschichten erfolgte durch Spincoating aus dem technisch etablierten Lösungsmittelsystem N-Methylmorpholin-N-Oxid/Dimethylsulfoxid (NMMO/DMSO). Durch Variation der Cellulosekonzentration und der Spincoatingparameter wurden Celluloseschichten unterschiedlicher Schichtdicke (von 30 bis 500 nm) auf den anorganischen Trägern präpariert. Die resultierenden Modellschichten wurden in Bezug auf Schichtdicke (Ellipsometrie), Morphologie (Rasterkraftmikroskopie) und chemische Zusammensetzung (Röntgen-Photoelektronenspektroskopie, XPS) untersucht. Sie wiesen eine niedrige Rauigkeit und eine für Cellulose charakteristische chemische Zusammensetzung auf.

Das hochaufgelöste XPS-Spektrum des Kohlenstoffs (C 1s, Abb. 2) zeigt neben den bei Celluloseschichten allgegenwärtigen [21, 23] Kohlenwasserstoffverunreinigungen (Teilpeak A) ein für die Cellulose typisches Verhältnis vom Teilpeak E (Acetalgruppen, O-C-O) zum Teilpeak D (Kohlenstoff-Hydroxylgruppen, C-OH) von 0,22. Die geringfügige Zunahme des Teilpeaks E gegenüber dem Teilpeak D (stöchiometrisches Verhältnis  $E/D = 0,2$ ) ist ebenso wie der Teilpeak C auf Oxidationsprodukte der Cellulose zurückzuführen. Der Teilpeak C steht hierbei für die durch den Lösungsprozess im NMMO eingebrachten Carboxylgruppen [24] die bis zu 2,8 % des Gesamtkohlenstoffgehaltes ausmachen.

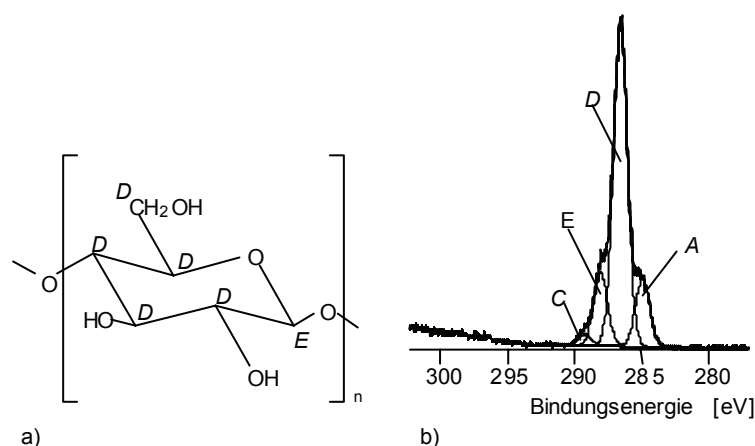


Abb. 2: Struktur der Cellulose (a) mit Zuordnung zu den Peaks im hochaufgelösten C 1s Spektrum (b) der Celluloseschichten

Die Cellulose ist im NMMO-System nicht molekulardispers löslich, es wurde von kristallinen Aggregaten bis in die Größenordnung von Mikrofibrillen berichtet [25]. Aus diesem Grund wird die Oxidation bevorzugt in den leichter zugänglichen und reaktiven amorphen Bereichen stattfinden und somit zur lokalen Anreicherung der Carboxylgruppen führen.

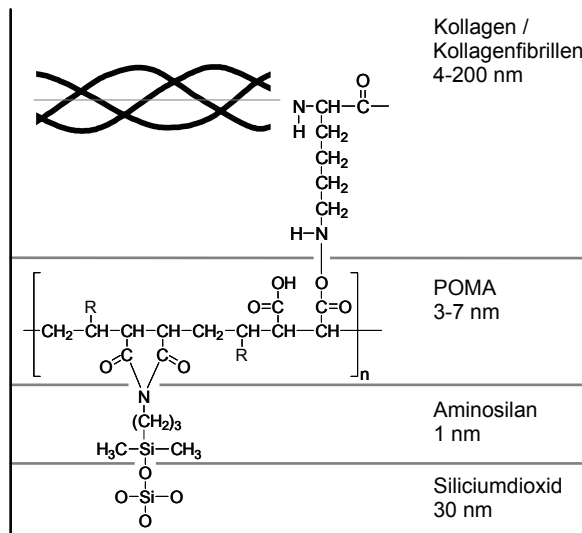
Die kovalente Ankopplung erlaubte erstmalig die Verwendung derartiger Schichten zur Ladungscharakterisierung mittels elektrokinetischer Methoden.

### Präparation der Kollagenmodellschichten

Analog zur Entwicklung der Cellulosemodellschichten wurde durch Salchert u.a. [16] ein Verfahren zur Herstellung von Kollagenfibrillenschichten entwickelt, die *in vitro* aus löslichem Tropokollagen rekonstituiert und gleichzeitig durch kovalente Anbindung

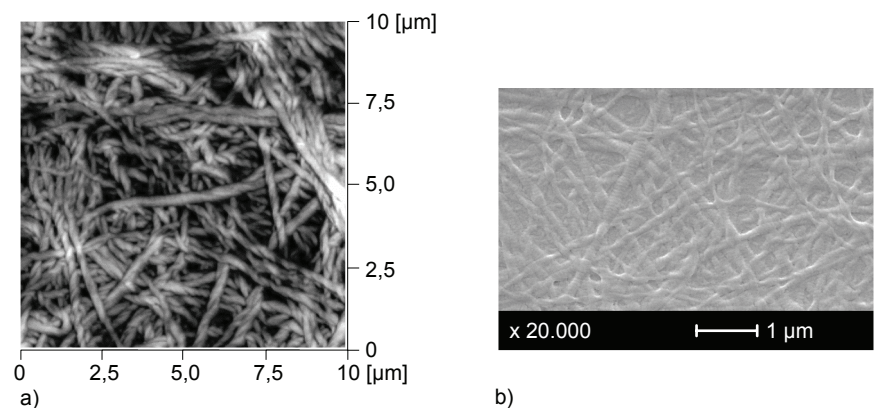
über reaktive Copolymerzwischen-schichten aus Poly(octadecen-*alt*-maleinsäureanhydrid) (POMA) auf anorganischen Trägermaterialien fixiert werden (siehe Abb. 3).

Abb. 3:  
Schematischer Aufbau der  
Kollagenmodellsschichten  
 $R = (CH_2)_{15}-CH_3$



Die resultierenden Kollagenschichten wurden in Bezug auf die immobilisierte Menge (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie/Ellipsometrie) und die Morphologie (Rasterelektronen- und Rasterkraftmikroskopie (Abb. 4) untersucht.

Abb. 4:  
Morphologie der  
Kollagenmodellsschichten:  
a) Rasterkraftmikroskopie  
(Phasensignal) einer Kollagen-  
fibrillenschicht in  $10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$   
KCl Lösung,  
b) rasterelektronenmikroskopische  
Aufnahme



Das zuvor beschriebene Verfahren ermöglichte mit hoher Reproduzierbarkeit die Erzeugung delaminationsstabiler Schichten zur Charakterisierung der Ladung in wässrigen Elektrolytlösungen.

### Ergebnisse: Cellulosemodellsschichten

Die Cellulosemodellsschichten wurden in Gegenwart unterschiedlicher Ionenstärken des 1:1 Elektrolyt KCl pH-abhängig durch Strömungsstrommessungen charakterisiert. Unabhängig von der Ionenstärke wurde ein isoelektrischer Punkt (IEP) unterhalb von  $\text{pH} = 2$  ermittelt (Abb. 5). Die Lage des IEP bestätigte die bereits durch die Photoelektronenspektroskopie ermittelte Gegenwart von Carboxylgruppen in der Celluloseschicht.

Mit steigenden pH-Wert nahm der Betrag des Strömungsstrom-Druckgradienten aufgrund zunehmender Deprotonierung der Carboxylgruppen zu. Der ab  $\text{pH} = 6$  erreichte plateauförmige Verlauf lässt auf die vollständige Dissoziation der oberflächennahen Carboxylgruppen der Celluloseschicht schließen.

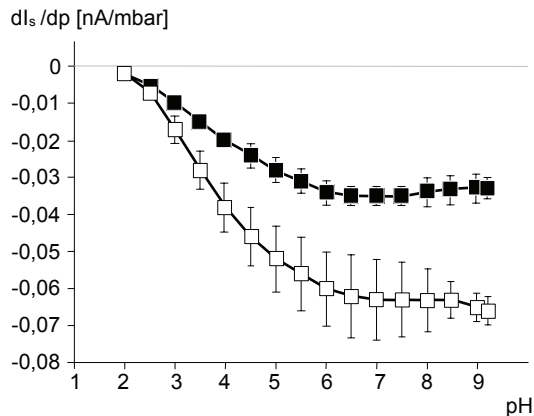


Abb. 5:  
Strömungsstrom-Druck-Gradient  $dI_s/dp$  einer Cellulosemodell-schicht, ( $d = 60 \text{ nm}$ , lufttrocken) bei verschiedenen Ionenstärken ( $\square$   $10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ,  $\blacksquare$   $10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) in Abhängigkeit des pH-Wertes, Elektrolytssystem KCl, (Kanalhöhe  $h = 15 \mu\text{m}$ )

Der Betrag des Donnan-Potenzials, die Grenzflächenleitfähigkeit und die Schichtdicke nahmen aufgrund der Dissoziation von Carboxylgruppen im Inneren der Schicht mit steigenden pH-Wert ebenfalls zu (Abb. 6).

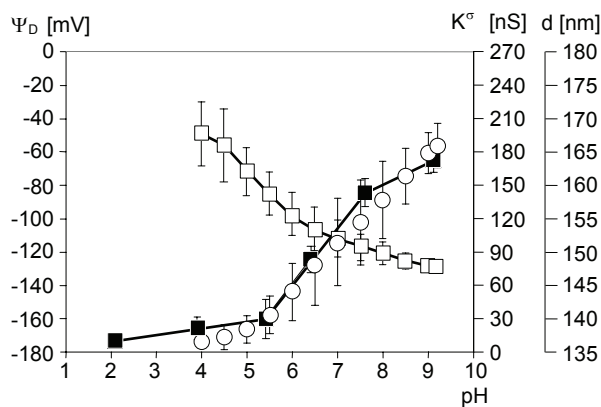
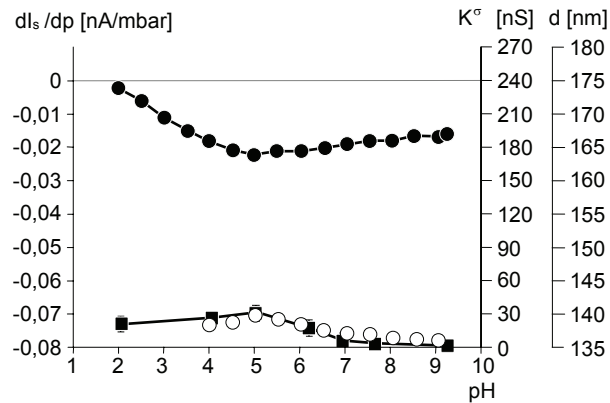


Abb. 6:  
Donnan-Potenzial  $\Psi_D$  ( $\square$ ), Grenzflächenleitfähigkeit  $K^s$  ( $\circ$ ) und Schichtdicke  $d$  ( $\blacksquare$ ) der Cellulosemodellschicht ( $d = 60 \text{ nm}$ , lufttrocken) in Abhängigkeit des pH-Wertes, Ionenstärke  $10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  KCl, (Kanalhöhe  $h = 15 \mu\text{m}$ )

Durch die zunehmende Deprotonierung der Carboxylgruppen erhöht sich die Konzentration an Gegenionen in der Celluloseschicht und folglich auch die Grenzflächenleitfähigkeit. Diese Anreicherung von Ionen in der Celluloseschicht bewirkt osmotisch bedingt die Einlagerung von Wassermolekülen und somit ein Quellen der Schicht. Verstärkt wird die Quellung durch die elektrostatische Repulsion negativ geladener Carboxylgruppen. Der pH-abhängige Verlauf des Donnan-Potenzials und des Strömungsstrom-Druckgradienten unterschieden sich im basischen pH-Bereich. Während der Betrag des Donnan-Potenzials über den gesamten pH-Bereich zunimmt, wurde beim Strömungsstrom-Druck-Gradient ab ca.  $\text{pH} = 6$  ein Plateau erreicht: Die das Donnan-Potenzial bestimmenden Carboxylgruppen im Inneren der Celluloseschicht werden durch elektrostatische Wechselwirkungen mit benachbarten Gruppen an der vollständigen Dissoziation gehindert ( $\text{pK}_{\text{eff}} > \text{pK}_0$ ), während die durch die Strömungsstromdaten reflektierten Carboxylgruppen im Randbereich der Celluloseschicht sich wie nahezu isolierte Carboxylgruppen mit unverändertem  $\text{pK}_{\text{eff}}$ -Wert verhalten. Die pH-abhängige Quellung und die Grenzflächenleitfähigkeit folgten dem Trend des Donnan-Potenzials, sodass gefolgert werden kann, dass die Eigenschaften der Volumenphase der Gelschicht deutlich von denen im Randbereich abweichen.

Als Ursache für den veränderten  $\text{pK}_{\text{eff}}$ -Wert im Inneren der Gelschicht wird die durch den Oxidationsprozess verursachte lokale Anreicherung von geladenen Gruppen in den amorphen Bereichen der Cellulose und eine durch die spezifischen Eigenschaften der

Abb. 7:  
Strömungsstrom-Druckgradient  $dl_s/dp$  (●), Grenzflächenleitfähigkeit  $K^σ$  (○) und Schichtdicke  $d$  (■) der Cellulosemodellschicht ( $d = 60$  nm lufttrocken) in Abhängigkeit des pH-Wertes, Ionenstärke  $10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$   $\text{CaCl}_2$  (Kanalhöhe  $h = 15 \mu\text{m}$ )



Neben dem IEP stimmten im sauren pH-Bereich der Kurvenverlauf des Strömungsstrom-Druckgradienten, die Grenzflächenleitfähigkeit und die Quellung zwischen den Elektrolytsystemen  $\text{CaCl}_2$  und  $\text{KCl}$  überein (Abb. 7). Abweichend zu dem Verhalten im sauren pH-Bereich bestand ab  $\text{pH} = 6$  ein starker Einfluss der Calciumionen auf die Ladung und Quellung der Celluloseschichten. Die Beträge für den Strömungsstrom-Druckgradienten waren geringfügig niedriger als im sauren pH-Bereich, parallel nahmen die Schichtausdehnung und die Grenzflächenleitfähigkeit deutlich ab. Dieses Verhalten ist durch Wechselwirkungen zwischen den Calciumionen und den deprotonierten Carboxylgruppen zu erklären. Mit zunehmendem pH-Wert resultiert durch starke Wechselwirkungen zwischen den zweifach positiv geladenen Calciumionen und den in immer größerer Anzahl negativ geladenen Carboxylgruppen eine deutliche Reduzierung der Nettoladung in der Schicht (zwei negativ geladene Carboxylgruppen werden durch  $\text{Ca}^{2+}$ -Anlagerung kompensiert), demzufolge sinkt die Anzahl an mobilen Gegenionen in der Gelschicht und somit die Grenzflächenleitfähigkeit. Ferner wird durch die Einlagerung von zweifach positiv geladenen Calciumionen wirksam die elektrostatisch bedingte Repulsion zwischen negativ geladenen Carboxylgruppen unterdrückt und somit die Quellung reduziert.

Aufgrund analoger Ergebnisse in Gegenwart von Magnesiumionen konnten ionenspezifische Effekte der verschiedenen, die Wasserhärte bestimmenden Ionen auf die Ladungsbildung der Celluloseschichten ausgeschlossen werden.

### Ergebnisse: Kollagenmodellschichten

Die Kollagenfibrillenschichten wiesen eine sehr deutliche, reversible Verschiebung des isoelektrischen Punktes (IEP) mit steigender Ionenstärke im Elektrolytsystem  $\text{KCl}$  (von  $I = 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  bis  $I = 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ , Abb. 8) von  $\text{pH} = 7,5$  bis zu  $\text{pH} = 5,3$  auf.

Die bevorzugte Adsorption von Chloridionen an das Kollagenmolekül kann als Ursache für das geänderte Säure-Base-Verhalten des Kollagenmoleküls ausgeschlossen werden [27]. Ebenso bewirkt die Erhöhung der Ionenstärke keine Veränderung der Dissoziation ionisierbarer Seitenketten in der Art, dass eine Verstärkung der Azidität des Kollagens resultiert [28, 29].

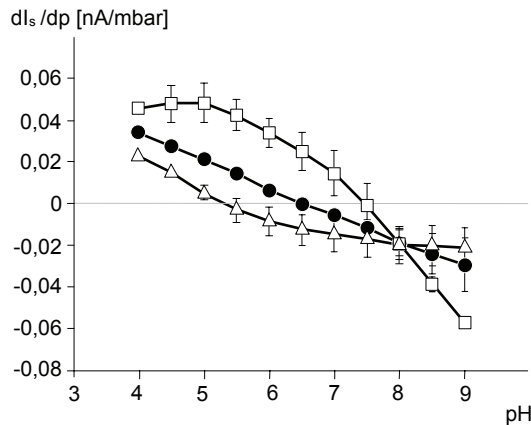


Abb. 8:  
Strömungsstrom-Druck-Gradient  $dl_s/dp$  einer Kollagenfibrillenschicht bei verschiedenen Ionenstärken  $I$  in Abhängigkeit des pH-Wertes, Elektrolytsystem KCl, (Kanalhöhe  $h = 50 \mu\text{m}$ ),  
 $\square I = 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ,  
 $\bullet I = 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ,  
 $\triangle I = 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$

Die im elektrokinetischen Experiment bestimmte Grenzflächenleitfähigkeit (Anreicherung von Ladungsträgern) war deutlich niedriger, als aufgrund der immobilisierten Kollagenmenge und Aminosäuresequenz erwartet. Angesichts dieser Ergebnisse ist eine im elektrokinetischen Experiment stark eingeschränkte Zugänglichkeit ionisierbarer Aminosäureseitenketten wahrscheinlich. Zudem nahm die Stabilität und Helizität mit steigender Ionenstärke zu (Abb. 9). Diese Ionenstärkebedingten Strukturänderungen im Kollagenmolekül wurden durch Anwendung der Dynamischen Differenzkalorimetrie (DSC) und der Circular-dichroismusspektroskopie (CD) an Kollagenproben, dialysiert gegen die verschiedenen Elektrolytlösungen, aufgeklärt.

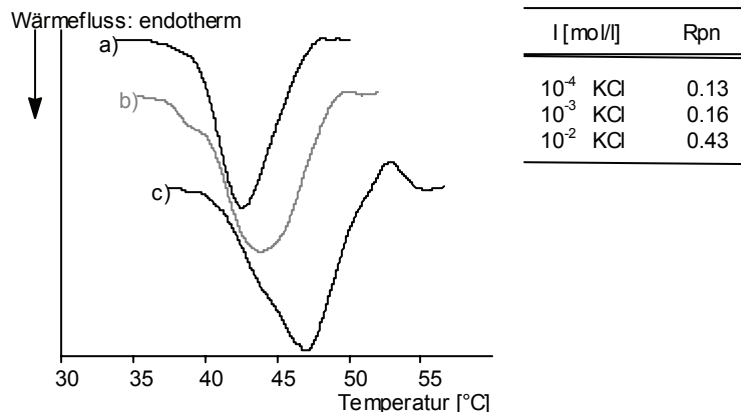


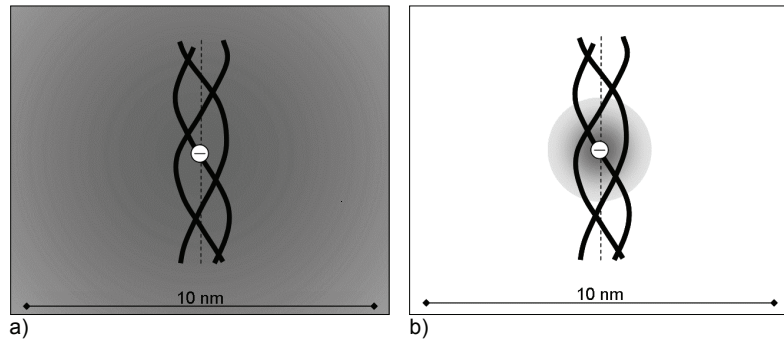
Abb. 9:  
links: Dynamische Differenzkalorimetrie, Denaturierung von Kollagenproben dialysiert gegen unterschiedliche KCl-Lösungen  $10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  (a),  $10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  (b) und  $10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  (c)  
rechts: Verhältnis der absoluten Intensität der positiven Bande um 221 nm zu dem der negativen Bande um 190 nm, ist ein Maß für die Helizität des Kollagenmoleküls

Der Rpn ist dem Verhältnis der dichroitischen Intensität proportional und wird direkt mit der Helizität der Kollagenmoleküle korreliert [30].

Die Ursache für diese deutlichen Eigenschaftsänderungen der Kollagenmoleküle ist in der geänderten Reichweite elektrostatischer Wechselwirkungen zu suchen. Im untersuchten Ionenstärkebereich nimmt die Debyelänge (als Maß für die Ausdehnung der elektrochemischen Doppelschicht) von  $\kappa^{-1} = 30 \text{ nm}$  bei  $I = 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  auf  $\kappa^{-1} = 3 \text{ nm}$  bei  $I = 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  ab. Im Falle der niedrigen Ionenstärke sind die elektrostatischen Wechselwirkungen verglichen mit den Abmessungen der Kollagentripelhelix sehr groß (Abb. 10a). Unter diesen Bedingungen sind kurzreichweitige, stabilisierende elektrostatische Wechselwirkungen zwischen einzelnen gegensätzlich geladenen Partnern nahezu unmöglich [31]. Der beobachtete Stabilitäts-/Helizitätszuwachs bei höherer Ionenstärke kann mit der Bildung von stabilisierenden Salzbrücken erklärt werden. Diese Formierung von Salzbrücken wird durch eine bessere räumliche Übereinstimmung (*Matching*) von gegensätzlich

Abb. 10:  
Schematische Zeichnung der Reichweite elektrostatischer Wechselwirkungen bei unterschiedlichen Ionenstärken im Vergleich zur Abmessung des Kollagenmoleküles,

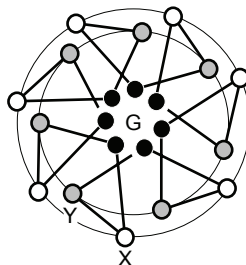
- a)  $I = 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ , sehr langreichweitige elektrostatische Wechselwirkungen (Debye Länge  $\kappa^{-1} = 30 \text{ nm}$ ),  
b)  $I = 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ , kürzere Reichweite der elektrostatischen Wechselwirkungen, (Debye Länge  $\kappa^{-1} = 3 \text{ nm}$ )



geladenen Gruppen im Fall der deutlich geringeren Reichweite (Abb. 10b) der Elektrostatik gefördert.

Durch die veränderte Kollagenstruktur sind ferner Änderungen in der Zugänglichkeit der ionisierbaren Seitenketten denkbar. Im nativen Kollagen sind die X-Positionen des sich wiederholenden G-X-Y-Triplets stärker zum Lösungsmittel exponiert als die Y-Positionen [32].

Abb. 11:  
Schematische Darstellung des Querschnitts der Kollagen-tripelhelix. Die unterschiedliche Exposition der Reste in den X- und Y-Positionen des Triplets zum Lösungsmittel ist deutlich ersichtlich. Zeichnung nach [32] (G steht für Glycin)



Durch Analyse der Kollagensequenz [33] wird klar, dass im Kollagen eine Präferenz von sauren Aminosäuren für diese X-Positionen im Triplet vorhanden ist. Demzufolge kann sich bei hoher Ionenstärke durch die Faltung der Helix eine saure Charakteristik im elektrokinetischen Experiment ergeben und somit den niedrigen IEP erklären. Dieser Erklärung folgend würden bei niedriger Ionenstärke die bevorzugt basisch besetzten Y-Positionen durch die leichte Entfaltung der Helix (siehe CD-Daten) stärker im elektrokinetischen Experiment detektiert.

Eine weitere Ursache für die Verschiebung des IEP kann in der Adsorption bestimmter Ionen aus der Elektrolytlösung liegen, besonders wenn bei höheren Ionenstärken durch Salzbrückenbildung und stärkerer Abschirmung geladener Gruppen die Ladungsdichte am Kollagen reduziert wird und somit ungeladene, hydrophobe Bereiche stärker für Ionenadsorptionseffekte zur Verfügung stehen. In der Vergangenheit konnte für verschiedene intrinsisch ungeladene Polymeroberflächen gezeigt werden, dass diese eine negative Nettoladung bei  $\text{pH} > 4$  durch die bevorzugte Adsorption von in wässrigen Elektrolytlösungen allgegenwärtigen Hydroxidionen aufweisen [34-36]. Ein ähnliches Verhalten der Hydroxidionen kann eine Ursache für die negative Nettoladung des Kollagenmoleküls besonders bei den höheren Ionenstärken bis zum pH Wert von 5,3 darstellen.

In Gegenwart der zweifach positiv geladenen Calciumionen wurde ein im Vergleich zum KCl-System gegensätzliches Verhalten der Säure-Base-Charakteristik der Kollagenschicht festgestellt.

Der IEP nahm mit steigender Ionenstärke von  $\text{pH} = 7.5$  bei  $I = 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ CaCl}_2$  auf über  $\text{pH} = 9$  bei  $I = 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ CaCl}_2$  zu (Abb. 12).



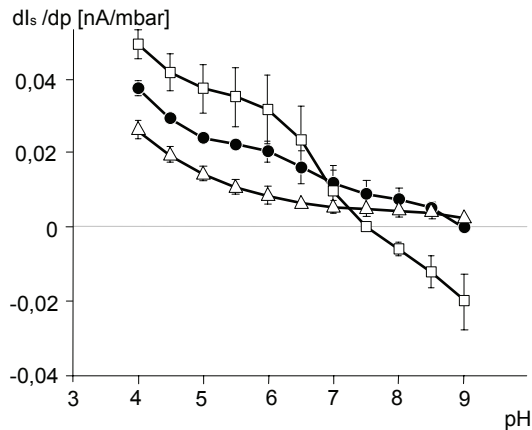


Abb. 12:  
 Strömungsstrom-Druck-Gradient  $dl_s/dp$  einer Kollagenfibrillenschicht bei verschiedenen Ionenstärken in Abhängigkeit des pH-Wertes, Elektrolytsystem  $\text{CaCl}_2$ , (Kanalhöhe  $h = 50 \mu\text{m}$ )  
 □  $I = 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ CaCl}_2$ ,  
 ●  $I = 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ CaCl}_2$ ,  
 △  $I = 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ CaCl}_2$

Der Ladungsbildungsprozess im  $\text{CaCl}_2$ -Elektrolytsystem wird wie bei den Carboxylgruppen enthaltenden Celluloseschichten im alkalischen pH-Bereich durch spezifische Wechselwirkungen zwischen den Calciumionen und den deprotonierten, sauren Aminosäureseitenketten (Carboxylgruppen der Asparagin- und Glutaminsäure) des Kollagens bestimmt [27]. Die Anlagerung von zweifach positiv geladenen Calciumionen an die deprotonierten Carboxylgruppen bewirkt eine Erhöhung der positiven Ladung. Durch Zunahme der Konzentration können mehr Calciumionen mit den Carboxylgruppen im Kollagen in Wechselwirkung treten, folglich erhöht sich die resultierende positive Nettoladung der Kollagenschicht und verschiebt den IEP in den basischen pH-Bereich.

### Schlussfolgerungen

Die im Rahmen dieses Projektes entwickelten Modellfilme sind auch bei hohen Scherraten in wässrigen Medien stabil und bilden somit eine vielseitig nutzbare Plattform zur eingehenden Untersuchung cellulose- oder kollagenbasierter Produkte.

Die Verwendung des im IPF entwickelten elektrokinetischen Messsystems (Mikrospaltzelle) erlaubte die umfassende Charakterisierung von analytisch anspruchsvollen *weichen* Biopolymerfilmen. Neben den experimentellen Herausforderungen wurden im Rahmen der hier vorgestellten Arbeit auch neue theoretische Ansätze zur Wiedergabe der Ladungscharakteristik *weicher Grenzflächen* genutzt.

Die Ergebnisse bilden eine Basis für die Analyse von Zusammenhängen zwischen Ladungsbildungsphänomenen und Strukturänderungen an Grenzflächen weitverbreiteter Biopolymermaterialien in wässrigen Medien. Insofern stellt die vorliegende Arbeit eine Grundlage für die eingehendere Untersuchung des Einflusses von Verarbeitungs- und Veredlungsprozessen auf die Eigenschaften dieser und anderer Materialien dar.

### Literatur

- [1] Z. Ruszczak, W. Friess: Adv. Drug Deliv. Rev. 55 (2003), S. 1679
- [2] D. G. Wallace, J. Rosenblatt: J. Adv. Drug Deliv. Rev. 55 (2003), S. 1631
- [3] J. Desai, K. Alexander, A. Riga: Int. J. Pharm. 308 (2006), S. 115
- [4] T. Ohara, S. Kitamura, T. Kitagawa, K. Terada: Int. J. Pharm. 302 (2005), S. 95
- [5] C.H. Lee, A. Singla, Y. Lee: Int. J. Pharm. 221 (2001), S. 1
- [6] F. Braye, A. Hautier, C. Bouez, O. Damour: Pathol. Biol. (Paris) 53 (2005), S. 613
- [7] T. Hunziker: Hautarzt 55 (2004), S. 1077
- [8] Z. Ruszczak: Adv. Drug Deliv. Rev. 55 (2003), S. 1595

- [9] W. Czaja, A. Krystynowicz, S. Bielecki, R.M. Brown: *J. Biomaterials* 27 (2006), S. 145
- [10] M.G. Patino, M.E. Neiders, S. Andreana, B. Noble, R.E. Cohen: *J. Oral Implantol.* 28 (2002), S. 220
- [11] T. Asahi, T. Yamamoto, H. Kutsuki: *Ther. Apher. Dial.* 7 (2003), S. 73
- [12] J. Vienken, S. Bowry: *Artif. Organs.* 26 (2002), S. 152
- [13] W.R. Clark, D. Gao: *Semin. Dial.* 15 (2002), S. 191
- [14] Y. Abe, A. Mochizuki: *J. Appl. Polym. Sci.* 89 (2003), S. 333
- [15] U. Freudenberg, S. Zschoche, F. Simon, A. Janke, K. Schmidt, S.H. Behrens, H. Auweter, C. Werner: *Biomacromolecules* 6 (2005), S. 1628
- [16] K. Salchert, U. Streller, T. Pompe, N. Herold, M. Grimmer, C. Werner: *Biomacromolecules* 5 (2004), S. 1340
- [17] M. Schaub, G. Wenz, G. Wegner, A. Stein, D. Klemm: *Adv. Mater.* 5 (1993), S. 919
- [18] V. Buchholz, G. Wegner, S. Stemme, L. Ödberg: *Adv. Mater.* 8 (1996), S. 399
- [19] F. Rehfeldt, M. Tanaka: *Langmuir* 19 (2003), S. 1467
- [20] T. Pompe, S. Zschoche, N. Herold, K. Salchert, M.F. Gouzy, C. Sperling, C. Werner: *Biomacromolecules* 4 (2003), S. 1072
- [21] E. Konturi, P.C. Thüne, J.W. Niemantsverdriet: *Polymer* 44 (2003), S. 3621
- [22] S. Gunnars, L. Wagberg, M.A. Cohen Stuart: *Cellulose* 9 (2002), S. 239
- [23] C.D. Edgar, D.G. Gray: *Cellulose* 10 (2003), S. 299
- [24] T. Rosenau, A. Potthast, H. Sixta, P. Kosma: *Prog. Polym. Sci.* 26 (2001), S. 1763
- [25] T. Röder, B. Morgenstern: *Polymer* 40 (1999), S. 4143
- [26] S.S. Dukhin, R. Zimmermann, C. Werner: *J. Coll. Interface Sci.* 274 (2004), S. 309
- [27] S.T. Li, E.P. Katz: *Biopolymers* 15 (1976), S. 1439
- [28] U. Freudenberg, S.H. Behrens, P.B. Welzel, M. Müller, M. Grimmer, K. Salchert, T. Taeger, K. Schmidt, W. Pompe, C. Werner: *Electrostatic interactions modulate the conformation of collagen I.*– *Biophys. J.* 92 (2007), S. 2108
- [29] M. Borkovec, B. Jönsson, G.J.M. Koper: *Surf. Coll. Sci.* 16 (2001), S. 99
- [30] Y. Feng, G. Melacini, J.P. Taulane, M. Goodman: *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996), S. 10351
- [31] S. Kumar, R. Nussinov: *ChemBioChem* 3 (2002), S. 604
- [32] V.C. Chan, J.A.M. Ramshaw, A. Kirkpatrick, K. Beck, B. Brodsky: *J. Biol. Chem.* 272 (1997), S. 31441
- [33] ExPASy Proteomics Server: Swiss-Prot/TrEMBL: P02453 (CO1A1\_bovine), P02465 (CO1A2\_bovine)
- [34] R. Zimmermann, S. Dukhin, C. Werner: *J. Phys. Chem. B* 105 (2001), S. 8544
- [35] C. Werner, U. König, A. Augsburg, C. Arnhold, H. Körber, R. Zimmermann, H.-J. Jacobasch: *Coll. Surf. A* 159 (1999), S. 519
- [36] C. Dicke, G. Hähner: *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002), S. 12619