



**Schlussbericht
zum Projekt**

„Neuartiges Konzept zum Tissue Engineering von langen Röhrenknochen auf der
Basis biologisierter Scaffolds“ - Teilprojekt PHB-Fäden
(Unterprojekt der Abt. MF - Erzeugung schmelzgesponnener PHB-Fäden
für die textile Verarbeitung)
Im Rahmen des Förderprogramms
Innoregio / INNtex

Förderkennzeichen:	03/1841A
Bewilligungszeitraum:	01.04.2004 bis 30.06.2006
Dresden, 2. April 2007	Der Bericht umfasst: 32 Seiten 11 Abbildungen 6 Tabellen Anhang
Projektleiter:	Projektbearbeiter:
Dr. Gerhilt Schmack (bis 01/2005)	
Dr.-Ing. Roland Vogel (ab 02/2005)	Dipl.-Chem. Lutz Peitzsch

Tel.: +49351 / 4658 / 302
Fax.: +49351 / 4658 / 219
e-mail: vogel@ipfdd.de

<http://www.ipfdd.de>

Inhaltsverzeichnis

- I. Kurzdarstellung
 - 1. Aufgabenstellung
 - 2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde
 - 3. Planung und Ablauf
 - 4. Wissenschaftlicher und technischer Stand an den angeknüpft wurde
 - 5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

- II. Eingehende Darstellung
 - 1. Erzielte Ergebnisse
 - 2. Voraussichtlicher Nutzen im Sinne des Verwertungsplanes
 - 3. Bekannt gewordene Fortschritte bei Stellen mit ähnlichem Forschungsprofil
 - 4. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen

- III. Anlage Erfolgskontrollbericht

I. Kurzdarstellung

1. Aufgabenstellung

Das Ziel der Arbeiten der Abt. Mechanik und Fadenbildung im Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e.V. im Rahmen des Projektes bestand in der Erarbeitung verfahrenstechnischer Grundlagen für die Herstellung biologisch abbaubarer Fäden auf Basis von P3HB unter medizinisch relevanten Bedingungen.

Als Ausgangsmaterial sollte biotechnologisch hergestellte P3HB verwendet werden, welche jedoch nur in Pulverform vorlag. Das Schmelzspinnen von Pulver setzt jedoch eine andere Prozessführung voraus, die das grundsätzlich andere Einzugsverhalten von Pulver gegenüber Granulat im Extruder berücksichtigt. Das in der Abt. Mechanik und Fadenbildung des IPF entwickelte Konzept zur Kopplung eines Zweiseckextruders mit einem Spinnkopf sollte auf das P3HB-Pulver angewendet werden. Die neue Prozessführung sollte optimiert werden, da durch die thermische Instabilität der PHB hierzu erheblicher Forschungsbedarf bestand.

Es bestand weiterhin das Ziel, durch Optimierung stoffspezifischer Extrusions- und Spinnparameter einen langzeitkonstanten und damit kontinuierlichen online Spinnstreckprozess zu erreichen. Die generierten Fäden sollten eine textile Verarbeitung im Rahmen der Sticktechnik ermöglichen. Die Abgleichung der Parameter bezüglich der notwendigen physikalischen Fadeneigenschaften (Festigkeitswerte $> 250 \text{ MPa}$ und eine Restdehnung von 20 – 35 % waren angestrebt) erfolgte mit der Abt. VW des IPF. Im Rahmen der Oberflächenmodifizierungen der Polymere war vorgesehen, den Einfluss verschiedener Spinnpräparationen zu untersuchen.

2. Voraussetzungen

Für das beantragte Vorhaben existierten in der Abteilung Mechanik und Fadenbildung des IPF zahlreiche Voraussetzungen. Experimentelle Arbeiten zu Schmelzspinnprozessen im Schnellspinnbereich und Spinn-Streck-Prozessen sind neben theoretischen Arbeiten zur Modellierung des Schmelzspinnprozesses Gegenstand der Forschung. Umfangreiche Arbeiten umfassten das Erspinnen von Fäden für medizinische Einsatzzwecke; hierbei wurden auch erste Spinnstreckversuche auf der Basis von P3HB-Granulat durchgeführt und P3HB-Fäden hergestellt.

Vor der Beantragung des Projektes war in der Abteilung die innovative Technologie der Kopplung von Doppelschneckenextruder und Spinnkopf zur Verarbeitung von Pulvern in einem Schmelzspinnprozess entwickelt worden. Diese Technologie bildete die experimentelle Voraussetzung für einen Spinnstreckprozess auf der Basis von P3HB-Pulvern.

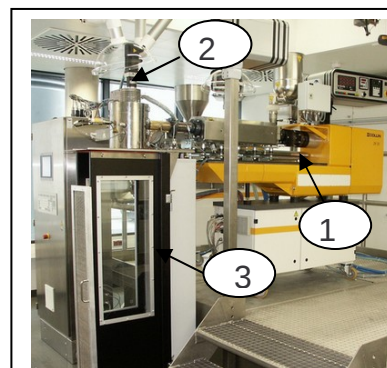


Abb.1: Zweiseckextruder(1) mit Spinnkopf(2) und Blasschacht(3)

3. Planung und Ablauf

Das Ziel der Arbeiten war die Erarbeitung der verfahrenstechnischen Grundlagen für die Herstellung von biologisch abbaubaren Fäden auf der Basis von P3HB, die jedoch nur als Pulver vorliegt. Die Erspinnung von Pulver setzt jedoch eine andere Prozessführung voraus. Auf Grund der neuen Prozessführung war bezüglich der Optimierung sowohl der Prozess- als auch der Fadenparameter erheblicher Forschungsbedarf vorhanden. Durch Optimierung stoffspezifischer Extrusions – und Spinnparameter sollte eine Spinnstabilität für einen kontinuierlichen Spinnstreckprozess erreicht werden.

Die Aufgabenstellung war in mehrere Arbeitsschritte unterteilt:

1. Charakterisierung des P3HB-Pulvers bezüglich der thermischen und rheologischen Eigenschaften des Ausgangsmaterials und der ersponnenen Fäden. Molmasse und Molmassenverteilung sollten für alle zu testenden P3HB-Pulver bestimmt werden.
2. Variation der Spinnparameter in einem online Spinnstreckprozess mit zwei Zielstellungen: Zum einen sollte über die textilphysikalischen Eigenschaften Einfluss auf das textile Verarbeitungsverhalten während des Stickprozesses genommen werden, zum anderen war beabsichtigt über Fadenstärken und Elementarfadenzahlen Einfluss auf Porengröße und Hohlräume in den Scaffolds zu nehmen.
3. Bestimmung der Strukturparameter der P3HB-Fäden zur Charakterisierung des Einflusses der Spinnparameter auf Veränderungen bei der Strukturbildung und damit auf Veränderungen in den textilphysikalischen Eigenschaften.
4. Charakterisierung der chemischen Oberflächenstruktur der P3HB-Fäden. Eine wesentliche Aufgabe sollte darin bestehen, Präparationen auszuwählen und einzusetzen, die für den Verarbeitungsprozess vorteilhaft und unter medizinischen Gesichtspunkten unbedenklich sind bzw. entsprechend entfernt werden können.
5. Koordinierung der Ergebnisse, Dokumentation

4. Stand Wissenschaft und Technik zum Zeitpunkt der Antragstellung

Nachteile der P3HB, wie unzureichende textilphysikalische Eigenschaften der Filamente, das niedrige Festigkeits- und Dehnungsniveau und besonders die Sprödigkeit konnten durch vorhergehende Arbeiten in der Arbeitsgruppe des Antragstellers eliminiert werden. Es wurde ein einstufiger Spinnstreckprozess für die Herstellung von P3HB-Filamenten entwickelt, dessen gewählte Spinn- und Streckbedingungen, insbesondere die thermischen Bedingungen und die Spinnspannung der Fadenbildungszone die Ausbildung der spannungsinduzierten Kristallisation ermöglichten. So konnten P3HB-Filamente hoher Orientierung mit fibrillärer Struktur und guten textilphysikalischen Eigenschaften bezüglich des Festigkeits- und Dehnungsniveaus, ersponnen werden [1]. Es wurden E-Moduli von 4 GPa und bezüglich der physikalischen Bruchspannungen Werte von 400 MPa und Bruchdehnungswerte von 45 % erreicht, die über einen Zeitraum von drei Monaten stabil blieben.

Röntgenstreuenaufnahmen zeigten, dass die P3HB in zwei unterschiedlichen Kristallmodifikationen (α und β) kristallisieren kann [2, 3]. Die kristalline α -Modifikation ist die PHB übliche Kristallmodifikation, welche sich auch aus der ruhenden Schmelze bildet. Die alleinige Ausbildung dieser Kristallmodifikation führt bei geringer Orientierung zu sphärolithischen Fadenstrukturen, die durch hohe Sprödigkeit und ein äußerst niedriges Festigkeits- und Dehnungsniveau (50 MPa und 2 %) charakterisiert sind. Die kristalline β -Modifikation entsteht als Ergebnis einer spannungsinitierten Kristallisation und führt zu fibrillären Fadenstrukturen. Deren Entstehung ist an eine definierte Fadenspannung im Fadenbildungsprozess und damit an hohe Streckgrade gebunden und geht konform mit wesentlich höheren Festigkeitswerten verbunden mit ausreichenden Dehnungswerten, die für eine textile Weiterverarbeitung unerlässlich sind und diese zum Beispiel auf einem Stickautomaten erst ermöglichen. Auf diesem Weg konnten ausreichende Mengen an PHB-Filamenten ersponnen werden, um im Kleinstmaßstab mittels textiltechnologischer Verfahren Testmuster für den medizinischen Einsatz herzustellen [4].

Bei der Herstellung größerer Mengen an P3HB-Filamenten, das heißt beim Schmelzspinnen mit längeren Spulenlaufzeiten von 2 min mit ca. 4000 m Filamenten zeigen sich jedoch erhebliche Probleme bei der textilen Weiterverarbeitung. Die Einzellagen der Filamente auf der Spule verkleben und lassen sich nur teilweise für die Weiterverarbeitung wieder abwickeln. Das Problem des Verklebens der Filamente lässt sich auch nicht durch den Einsatz verschiedener Spinnpräparationen beheben. Ursache des Verklebens ist die zu langsame Kristallisation der α -Kristallmodifikation beim Schmelzspinnen [5]. Ursache ist die extrem hohe Reinheit der bakteriell hergestellten P3HB, die durch einen Batch-Fermentationsprozess hergestellt wird. Die Dichte an Kristallisationskeimen ist ungewöhnlich niedrig. Dementsprechend erfolgt die Kristallisation bei verhältnismäßig niedrigen Temperaturen; anschließend erfolgt eine sekundäre Kristallisation während der Lagerung. Dies geschieht, obwohl die P3HB komplett stereoregulär ist und üblicherweise einen hohen Kristallisationsgrad besitzt. Der Kristallisationsgrad steigt logarithmisch mit der Lagerzeit. Die intermolekulare Diffusion der P3HB-Moleküle aus den noch vorhandenen amorphen Anteilen führt offensichtlich beim Schmelzspinnen zum Verkleben der Fadenlagen.

In der Fachliteratur sind verschiedene Möglichkeiten zur Behebung dieses Problems beschrieben:

Gordeyev et al. [6] lösen die P3HB in 1,2-Dichlorethan und führen einen Gelspinnprozess mit anschließender Temperung der Monofilamente durch. Dieses Verfahren vermeidet den thermischen Abbau während der Extrusion und liefert damit günstige mechanische Eigenschaften der Fäden. Der Einsatz von organischen Lösungsmitteln schließt jedoch einen medizinischen Einsatz dieser Fäden im Kontakt mit Humangewebe aus.

Liu et al. [7] untersuchen die Möglichkeiten der Nukleierung der α -Kristallmodifikation von PHB-Copolymeren mit gängigen Nukleierungsmitteln wie Talkum, BN, Tb_2O_3 , La_2O_3 und deren Mischungen bei statischer Abkühlung. Sie konnten eine Erhöhung der Kristallisationstemperatur und der Kristallisationsgeschwindigkeit nachweisen. Jedoch sind alle verwendeten Nukleierungsmittel für medizinische Zwecke nicht geeignet.

Da aber der Einsatz eines Nukleierungsmittels für die Erhöhung der Kristallisationstemperatur und der Kristallisationsgeschwindigkeit unumgänglich ist, kann für den Einsatz im Blut- und Gewebekontakt nur ein verträgliches Additiv verwendet werden.

Shuai et al. [8] und He et al. [5,9] setzen deshalb α -Cyclodextrin, eine ringförmige Verbindung aus sechs Glukose-Einheiten, ein. Cyclodextrine werden bereits als Träger für Pharmaka im menschlichen Gewebe verwendet [10]. Es ist möglich mit dem

α -Cyclodextrin eine Wirt-Gast-Verbindung (inclusion complex) mit einem einzelnen P3HB-Molekül herzustellen [5, 8]. Die erhaltene Komplexverbindung wirkt sehr gut als Nukleierungsmittel für die α -Kristallmodifikation bei Abkühlung der statischen Schmelze. Es werden sowohl Kristallisationstemperatur als auch Kristallisationsgeschwindigkeit erhöht. He et al. verwenden [9] α -Cyclodextrin direkt, d. h. ohne Komplexbildung als Nukleierungsmittel. Der Effekt der Nukleierung der α -Kristallmodifikation konnte auch hier nachgewiesen werden. Er ist aber geringer als bei dem α -Cyclodextrin/P3HB-Komplex.

In der Fachliteratur konnten keine Aussagen darüber gefunden werden, wie Nukleierungsmittel die Kristallisation der P3HB in Verbindung mit der spannungsinduzierten Kristallisation beim Schmelzspinnen verändert.

Recherchen in der Fachliteratur erbrachten keine Hinweise auf den Einfluss von verschiedenen Präparationen hinsichtlich der Klebeneigung bzw. Abwickelbarkeit von P3HB-Fäden.

Literatur:

1. Schmack, G., Jehnichen, D., Vogel, R., Tändler, B.
Biodegradable Fibers of Poly(3-hydroxybutyrate) Produced by High-Speed Melt Spinning and Spin Drawing
J. Polymer Sci. Part B.: Polymer Physics, 38 (2000) 21, 2841-2850
2. Yamamoto, T., Kimizu, M., Kikutani, T., Furuhashi, Y., Cakmak, M.
The Effect of Drawing and Annealing Conditions on the Structure and Properties of Bacterial Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Fibres
Intern. Polym. Proc. 12 (1997), 29-37
3. Orts, W. J., Marchessault, R. H., Bluhm, T. L., Hamer, G. K.
Observation of Strain-Induced β Form in Poly(β -hydroxyalkanoates)
Macromolecules 23 (1990) 5368-5370
4. Schmack, G., Gliesche, K., Nitschke, M., Werner, C.
Implantate auf Basis von Poly(3-hydroxybuttersäure)
BIOMaterialien 3 (2002) 1, 21-25
5. He, Y., Inoue, Y.
 α -Cyclodextrin-Enhanced Crystallization of Poly(3-Hydroxybutyrate)
Biomacromolecules 4 (2003), 1865-1867
6. Gordeyev, S. A., Nekrasov, Yu. P., Shilton, S. J.
Processing of Gel-Spun Poly(β -hydroxybutyrate) Fibers
J. Appl. Polym. Sci., 81 (2001), 2260-2264
7. Liu, W. J., Yang, H. L., Wang, Z., Dong, L. S., Liu, J. J.
Effect of Nucleating Agents on the Crystallization of Poly(3-Hydroxybutyrate-co-Hydroxyvalerate)
J. Appl. Polym. Sci. 86 (2002), 2145-2152
8. Shuai, X., Porbeni, F. E., Wei, M., Bullions, T., Tonelli, A. E.
Stereoselectivity in the Formation of Crystalline Inclusion Complexes of Poly(3-hydroxybutyrate)s with Cyclodextrin
Macromolecules 35 (2002), 3778-3780
9. He, Y., Inoue, Y.
Effect of α -Cyclodextrin on the Crystallization of Poly(3-hydroxybutyrate)
J. Polymer Sci. Part B.: Polymer Physics, 42 (2004), 3461-3469
10. Bom, A., Bradley, M., Cameron, K., Clark, J. K., Egmond, J. van, Feilden, H., MacLean, E. J., Muir, A. W., Palin, R., Rees, D. C., Zhang, M.-Q.
Novel Concept of Reversing Neromuscular Block: Chemical Encapsulation of Rocuronium Bromide by a Cyclodextrin-Based Synthetic Host
Angew. Chemie 114 (2002) 2, 114, 278-280

II: Eingehende Darstellung

1. Erzielte Ergebnisse

1.1 Charakterisierung der P3HB-Pulver

Die Forschungsarbeiten wurden deutlich erschwert durch die erheblichen Schwierigkeiten bei der Beschaffung von hochwertiger PHB. Es wurden Restmengen Biopol (Monsanto) eingesetzt, die aber schon mehrere Jahre gelagert worden sind. Zwischenzeitlich wurden Chargen verschiedener Hersteller physikalisch charakterisiert und im Schmelzspinnprozess getestet (Copersucar, Brasilien; MBX 3400 Metabolix; mehrere Chargen der Fa. Biomer mit ungewisser Herkunft). Dieses Problem der Materialkontinuität konnte seit Anfang des Jahres 2006 gelöst werden. Durch Vermittlung der BASF steht uns jetzt ausreichend PHB der Charge Biocycle® 1000, Fa. Biocycle, Brasilien, zur Verfügung. Dieses Material ist sehr rein und für den Schmelzspinnprozess bestens geeignet.

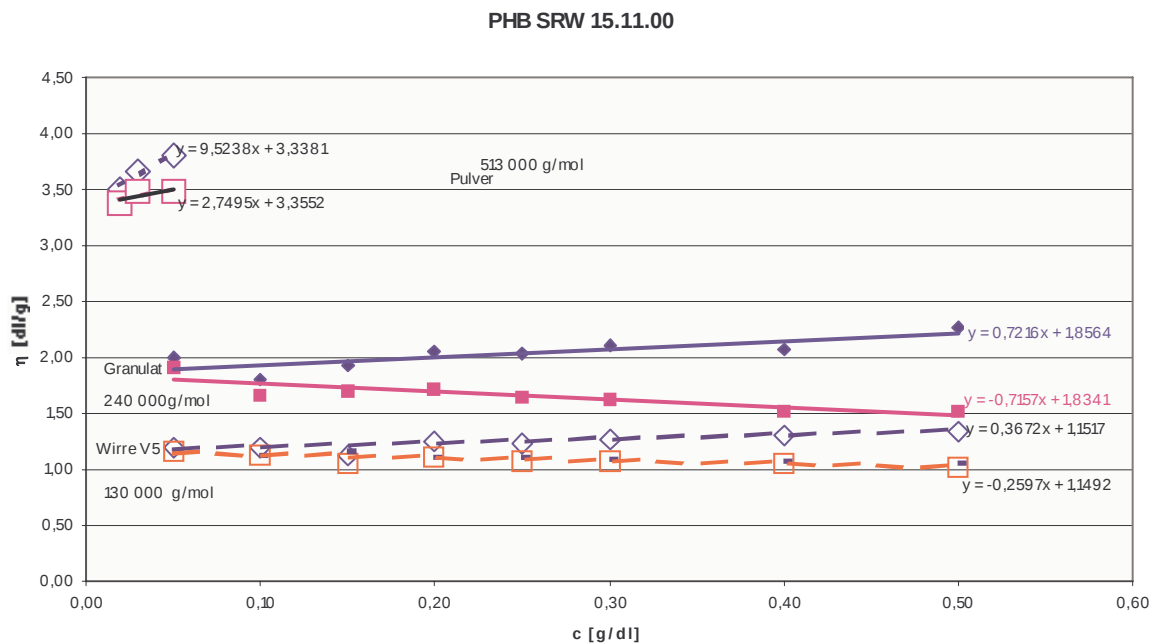
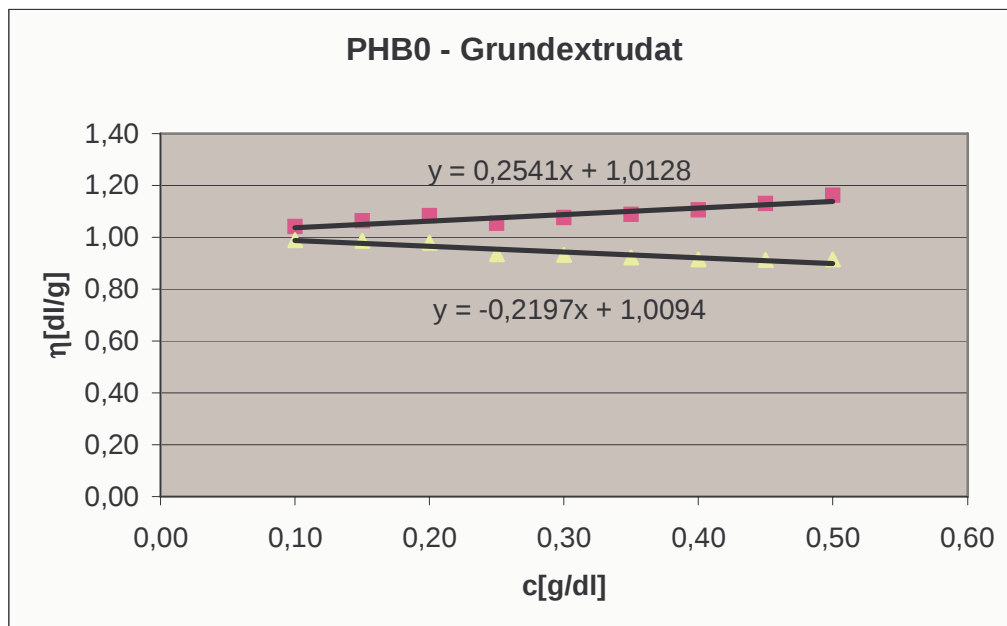


Abb. 2 : Die Bestimmung der Molmasse der P3HB Monsanto gestaltete sich aufgrund der geringen Chloroformlöslichkeit als schwierig, jedoch wird der gefundene Wert indiziert durch die besser bestimmbaren Molmassen von Granulat und Wirre (thermischer Abbau) bestätigt.

Über die Lösungsviskosität wurde M_v von der bei den P3HB-üblichen Bedingungen (ermittelt und getestet zuerst mit P3HB Biopol, Fa. Monsanto) extrudiertem Biocycle® 1000, Fa. Biocycle mit 110 000 g/mol bestimmt. Dieser Wert kann als ausreichend betrachtet werden, um P3HB-Fäden mit Filamentanzahl 12 und höher zu erspinnen. Für das Originalpulver Biocycle® 1000, Fa. Biocycle, wurde M_w von 350000 g/mol mittels SEC bestimmt (D. Voigt; Laborprotokoll v. 17. 07. 06, unveröffl. Ergebnisse).



$$\eta_{\text{int}} = 1,0111; M_v = 110000 \text{ g/mol}$$

Abb. 3: Diagramm zur Bestimmung von M_v aus den Lösungsviskositätsdaten von extrudiertem unmodifizierten Biocycle® 1000 der Fa. Biocycle

Für P3HB Biopol (Fa.Monsanto) wurde untersucht, welche untere Filamentanzahl noch ersponnen werden kann. Es stellte sich heraus, dass für Filamentanzahl 9 der Durchsatz so gering ist mit 12,9 g/min, dass durch die längere Verweilzeit der Schmelze im Extruder-Düsenpaketbereich nur noch ein M_v von rund 80.000 g/mol an der Wirre mittels Lösungsviskosität zu ermitteln war. Dieser Wert reichte nicht mehr aus um einen aufwickelbaren verestreckten f9-Faden zu erhalten. Der Faden riß entweder schon zwischen den Galetten bei Reckverhältnissen von 3 – 6 oder an der Aufwickelautomatik. Tabelle 1 zeigt zum Vergleich zu f9-Düse die Durchsätze und M_v der Wirren für f12- und f24-Düse bei sonst gleicher Temperaturhöhenbelastung und gleichem P3HB Biopol Ausgangspulver. Mit f12- und f24-Düse konnten hingegen reproduzierbar Fäden mit Reckverhältnissen von 6 – 7,5 hergestellt werden.

In erster Näherung kann zu geschlussfolgert werden, dass bei P3HB die reproduzierbare Verspinnbarkeit beim Schmelzspinnen mit einer M_v von 100.000 g/mol beginnt. Die obere Grenze, bei welcher Molmasse P3HB noch durch die Spindüsen extrudierbar ist, wurde noch nicht bestimmt.

Tabelle 1: Darstellung des P3HB-Abbauverhaltens im Vergleich
zum PHB Biopol-Ausgangspulver und zu PHB Biopol-Granulat

Wirre-Herkunft nach Filamentanzahl	Durchsatz Q [g/min]	M _v [g/mol]
f9	12,9	80000
f12	18,7	100000
f24	31,2	120000
Zum Vergleich		
PHB-Pulver	-	513000
PHB-Granulat	-	240000

1.2 Variation der Spinnparameter in einem online Spinnstreckprozess

Im Rahmen des geförderten Projektes sind deutliche Verbesserungen der Schmelzspinntechnologie erreicht worden. Diese sind in den Zwischenberichten detailliert dargestellt worden.

Die im Anhang aufgeführten Protokolle zum Schmelzspinnen von P3HB geben einen Eindruck von der Komplexität des Gesamtprozesses. Exemplarisch sind die Daten zum Schmelzspinnen von P3HB Biopol, dem Hauptwerkstoff im Berichtszeitraum, dargestellt. Die 5 Temperaturmessstellen an den Extruderzonen, die 3 Messstellen am Spinnkopf sowie die Druckmessstellen zeigen, dass ab dem Einzug des Pulvers oder des Granulates in den Extruder ein genaues, reproduzierbares Temperatur-Druckprogramm über den gesamten Schmelzekanal gefahren werden muß, um eine verstreckbare Filamente an den Düsenausgängen zu erhalten.

Neben der Temperaturführung ist jedoch für ein gleichmäßig kontinuierliches Schmelzspinnen der P3HB die gleichmäßige Durchmischung der Schmelze im Extrudier- und Düsenpaketbereich notwendig. Nachdem mit den beiden Extruderarten, verschiedenenen getesteten Extruderschneckenarten sowie der Temperaturführung technologisch Grenzen für Druckaufbau sowie die Druckkonstanthaltung (vor allem im Düsenpaket) erreicht waren, musste ein Weg gefunden werden, den fortlaufenden Druckanstieg im Düsenpaket zu verhindern, beziehungsweise zu mindern.

Als wesentliche Verbesserung für die Minderung des Druckanstieges erwies sich der Einbau eines statischen Mischers (Kenicsmischer, Durchm. 8 mm, Fa. Striko Verfahrenstechnik) in den Schmelzekanal zwischen Extruder und Düsenpaket (B. Tändler und G. Friedel, unveröffentlichte Ergebnisse). In Abb. 4 ist ersichtlich, dass für PHB Biopol mit dem Einsatz des statischen Mischers eine annähernde Druckkonstanz im

Düsenpaket über etwa 1 Stunde und 50 Minuten erreicht wurde, dagegen musste ohne statischen Mischer bereits nach 65 Minuten die Spinn Düse gewechselt werden.

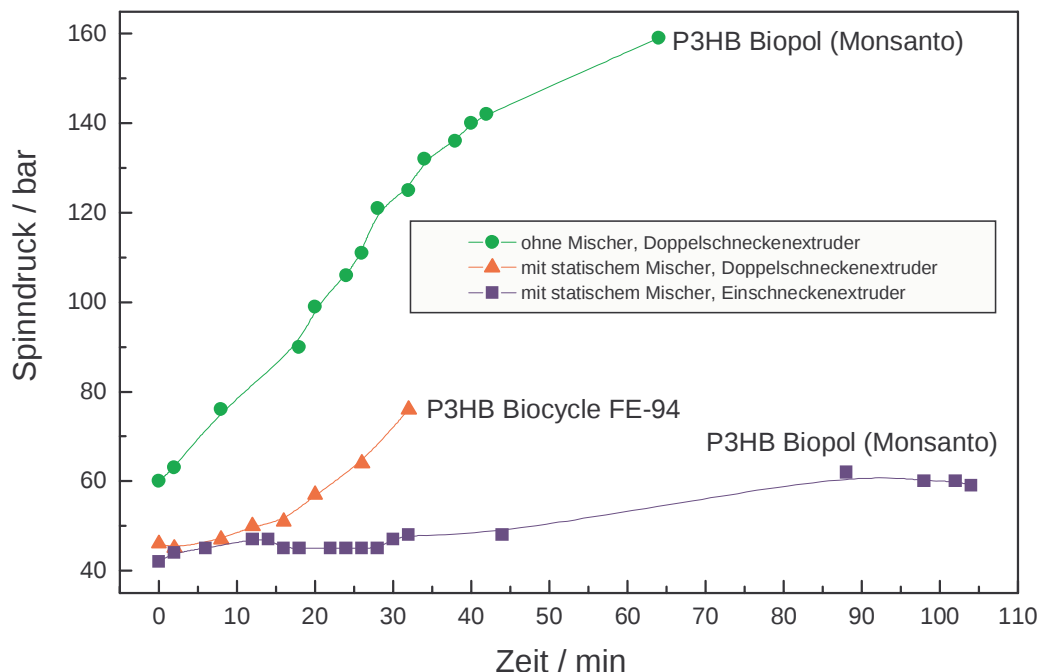


Abb. 4: Zeitliches Verhalten des Spinn Druckes bei verschiedenen apparativen Kombinationen sowie zwei PHB-Qualitäten

Mit dem statischen Mischer wurde die mögliche Zeit des kontinuierlichen Schmelzspinnens (für P3HB Biopol) nicht voll ausgereizt, da erst gegen Ende des Berichtszeitraumes eine regelmäßig lieferfähige Quelle verspinnbarer P3HB (Biocycle® 1000, Fa. Biocycle, Brasilien) zur Verfügung stand und für die Vielzahl zu untersuchender Detailprobleme mit den begrenzten P3HB Biopol-Vorräten (Fa. Monsanto) haushälterisch streng umgegangen werden musste.

Der etwas stärkere Druckanstieg bei der vorab vor Biocycle® 1000, Fa. Biocycle gelieferten Versuchscharge Biocycle FE-94 zeigt, dass trotz Einsatz des statischen Mischers bei ungünstigen chemisch-physikalischen Eigenschaften des PHB-Materials die Möglichkeiten des statischen Mischers nicht voll zum Tragen kommen.

Für konstante P3HB-Schmelzeigenschaften ist es notwendig, dass über die KTRON-Waage ein gleichmäßiger Massestrom an P3HB-Material (Pulver bzw. Granulat) in den Extrudereinzug gelangt. Verschiedene P3HB-Pulverqualitäten zeigen jedoch unterschiedliches Rieserverhalten. So musste bei P3HB Biopol die angestrebte gleichmäßige Pulverzuführung in den Extruder durch einen langsam drehenden Rührer in dessen Einzugsschacht unterstützt werden. P3HB Biopol besitzt als Pulver eine leichte Tendenz zur Agglomeratbildung beim Rieselvorgang, was ohne Rührer zur teilweisen Verstopfung des Einzugsschachtes führen kann.

Um die Agglomerationsneigung auszuschalten wurden in zwei Varianten von P3HB-Chargen Granulate hergestellt. Trotz seiner schlechten Rieselfähigkeit ließ sich P3HB Biopol (Fa Monsanto) nur durch Walzenkompaktierung zu Granulat (Brechgranulat) verarbeiten. P3HB Biocycle FE-94 wurde tablettiert.

Vorversuche, Pulver von P3HB Biopol mit einer Chloroformlösung von P3HB mit Molmassen zwischen 800.000 und 1.000.000 g/mol anzuteigen und dann zu Strängen zu verpressen, ergaben zwar nach dem Schneiden zylindrische Granulate. Nach dem Vakuumtrocknen, um das Chloroform vollständig zu entfernen, reichte jedoch die Druckfestigkeit der Granulate nicht aus (nur qualitative Prüfung), um unzerstört mit den Schnecken der KTRON-Waage transportiert werden zu können. Die Klebe- und Verbundwirkung der höher molekularen PHB allein reichte noch nicht aus, um eine brauchbare Druckfestigkeit der Granulate zu erhalten.

1.3 Bestimmung der Strukturparameter der P3HB-Fäden

Die röntgenographische Untersuchung der P3HB-Fäden erfolgte bereits parallel zum Antragszeitraum des Projektes mit der P3HB Biopol Monsanto und ist in /1/ publiziert. Von den zwischenzeitlich getesteten P3HB-Versuchschargen verschiedener Hersteller erschien es wenig sinnvoll, Röntgenstrukturuntersuchungen zu machen, da nicht genügend Material für systematische Reihen zur Verfügung stand.

Das begonnene Schmelzspinnprogramm mit Biocycle® 1000, Fa. Biocycle (derzeit Haushaltforschung bis zur Projektneueinwerbung) enthält drei wesentliche Komponenten (Nukleierung der P3HB-Schmelze – z. T. publiziert in /Vogel, R. et al. Macromolecular Bioscience 6 (2006) 9, 730-736/, Einfluß zweistufiger Präparation beim Schmelzspinnen auf die Fadeneigenschaften, Wiederholen der Experimente des sofortigen Spulenkühlens unter 0 °C nach dem Schmelzspinnen – Einfrieren des teilkristallinen Zustandes), aus denen sich Ansatzpunkte für systematische Röntgenstrukturuntersuchungen ergeben (beispielsweise Einfluß von zweistufiger Präparation auf das spannungslose Um- bzw. Nachkristallisieren des Fadens nach Aufschneiden der Spule, Einfluß des Nachtemperns des gekühlten Fadens auf dessen Kristallinität). Erst die Durchführung aller Schmelzspinnversuche mit einem kontinuierlich lieferbaren, einheitlichen, zertifizierten P3HB-Pulver lässt die durch Prozessänderungen bewirkten Kristallinitätsänderungen der Fäden deutlicher hervortreten.

Weitere Charakteristika der schmelzgesponnenen Fäden sind die textilphysikalischen Eigenschaften (Durchmesser der Filamente, Dehnung bei Maximalkraft, Höchstzugkraft, Physikalische Bruchspannung, Elastizitätsmodul). Diese sind für ausgewählte Fäden im Anhang dargestellt.

1.4 Charakterisierung der chemischen Oberflächenstruktur der P3HB-Fäden

Für ein erfolgreiches Schmelzspinnen der P3HB ist die Schmelzspinnpräparation eine entscheidende Größe. Einerseits müssen mit einer bestimmten Mindest-Adhäsionskraft die Filamente des Fadens zusammengehalten werden, um z. B. eine sticktechnische Verarbeitbarkeit im Dauerstrich zu realisieren, andererseits muss bei einer einstufigen Schmelzspinnpräparation die Adhäsionskraft nur so groß sein, dass der Faden filamentrissfrei von den Spulen abgewickelt werden kann. Diese Konstellation ist für die P3HB-Fäden um so wichtiger, als dass aus der Sicht der fadenanwendenden Biologen und Mediziner ein Verzwirnen des P3HB-Fadens als Maßnahme zur Verringerung der Filamentierungsneigung beim Sticken oder Weben sich negativ auf die Zellansiedlung und die Zellvermehrung auswirkt.

Die gängigen Schmelzspinnpräparationen bestehen im wesentlichen aus einem öligen Gleitmittel sowie einem Antistatikum. Für das Schmelzspinnen der üblichen Massenpolymere reicht eine solche Kombination im allgemeinen aus, um gut abwickelbare Fäden mit gutem Filamentzusammenhalt herstellen zu können. Bei der P3HB stellen sich die Probleme etwas komplexer dar.

Aus der Sicht des Schmelzspinnens bekannter Massenpolymere war die Präparation nach eingehenden Untersuchungen eindeutig festlegbar, da die spannungsinduzierte Kristallisation, welche vorrangig die textilphysikalischen Eigenschaften des Fadens bestimmt, vollständig verlief. Dadurch traten auch keine oder kaum Verklebungen an den Fadenkreuzungsstellen beim Aufwickeln der Fäden auf die Spulen auf.

In den üblichen Schmelzspinn-Regimen (Vgl. Tabellen im Anhang) läuft die spannungsinduzierte Kristallisation bei der P3HB nicht vollständig ab, der Faden ist auf der Spule je nach PHB-Qualität noch mehr oder minder weich (Bei sofortigem Kühlen im Kühlschrank nach dem Schmelzspinnen kann dieser Zustand über Wochen und Monate konserviert werden – die Glasübergangstemperatur von P3HB liegt bei etwa 0 °C). Dieser nichtauskristallisierte Teil der P3HB führt an der Oberfläche zu einem Verkleben der Fäden an den Kreuzungsstellen auf den Spulen, zur Unterscheidung vom anderen Klebe-Anteil soll dieser Anteil „amorphes Verkleben“ genannt werden. Es führt neben dem anderen, noch zu nennenden Effektanteil dazu, dass die Spulen nicht vollständig oder nur mit statistischen Filamentrissen abwickelbar sind.

Nun gibt es jedoch von eigenen Präparationsuntersuchungen während des Schmelzspinnens noch Hinweise, dass dem „amorphen Verklebungsanteil“ noch ein „Lösungsverklebeanteil“ mit Präparationsbestandteilen überlagert sein muß; dieser ist zwar für den Filamentzusammenhalt von Vorteil aber genau wie der „amorphe Verklebungsanteil“ für die Abwickelbarkeit der Fäden von den Spulen von Nachteil. Dass selbst das Siliconöl, welches in den gängigen Präparationen im Gemisch mit Antistatika (z. B. Calciumstearat) verwendet wird, einen „Lösungsverklebeanteil“ haben muß, war daran zu erkennen, dass bei sonst gleichen Schmelzspinnbedingungen der P3HB, der Faden aber nur mit dem Siliconöl präpariert wurde, die Fäden so fest zusammenklebten, dass kein Faden mehr von den Spulen abwickelbar war. Dieser Effekt wurde auch schon vorher in vergleichbarer Stärke für anionische und kationische Tenside mit öliger Konsistenz sowie für Paraffin-Carbonsäure-Gemische als Schmelzspinnpräparation bei den üblichen Schmelzspinnbedingungen festgestellt. Tabelle 2 zeigt einige Abwickeldaten für nach dem Schmelzspinnen raumtemperaturgelagerten Spulen, für kühlschrankgelagerte Spulen sind die Umwickeldaten und –bedingungen mit der Verstreckmaschine der Firma DIENES ausführlich im Anhang dargestellt.

Die Kombination Silastol 5055/3+5054 1:4 mit den Ausgangspräparationen Silastol 5055/3 (Calciumstearat in Siliconöl suspendiert) und Silastol 5054 (Siliconöl –beide Teile von der Fa Schill&Seilacher) erwies sich bis jetzt als beste Schmelzspinnpräparation, auch wenn sie noch nicht das Optimum hinsichtlich des Filament-

Tabelle 2: Auswahl von Abwickeldaten von P3HB-Originalspulen, erzeugt am 21.06.2005 aus P3HB Biopol (Fa.Monsanto, Lot M17)

Herkunftsspule	Herkunfts-Spulen-Laufzeit in min (Wickler - 2000 m je min)	Reck-Verhältnis	Filamentanzahl	Spinndruck bar	Abgewickelte Gesamtlänge m	Je Spule aufgewickelte Länge m
050621-2	2	6,0	f12	45	1660	1660
050621-4	2	6,0	f12	47	3160	3160
050621-6	2,8	6,0 ->6,5	f12	45	650	650
050621-8	2	6,5	f12	45	630	630
050621-10	2	7,0	f12	45	2360	1610 150 600
050621-12	2	7,0 ->7,5	f12	46	265	265

Zusammenhalts und der Fadenabwickelbarkeit darstellt. Zur Untersetzung dieses Sachverhaltes sind tabellarisch die Abwickeldaten einiger Spulen mit P3HB-Biopol-Faden aufgeführt.

Die Ursachen der begrenzten Abwickelbarkeit sind zum Teil oben schon angedeutet, qualitativ und halbquantitativ sollen noch einige Aspekte unten beschrieben werden. Die Mengen der abgewickelten Fäden waren jedoch erst einmal ausreichend in Qualität und Quantität, die systematischen Untersuchungen zur Sticktechnik von P3HB-Scaffolds sowie zur Besiedlung der Scaffolds mit Zellkulturen im Rahmen des Projektes vollständig abzudecken.

Wie stark die Reserven für ein Nachkristallisieren der P3HB bei Raumtemperatur und damit auch der Einfluß auf die beim Schmelzspinnen von nichtnukleierter P3HB die beiden o. g. „Oberflächen-Klebeeffekte“ nicht vernachlässigbar sind, sieht man mit den in Tabelle 3 dargestellten Versuchen. Es wird gezeigt, wie der sofort nach dem Schmelzspinnen unter 0 °C (unterhalb der Glasumwandlungstemperatur) gekühlte Faden auch nach mehrwöchigem Lagern seinen teilplastischen Zustand konserviert. Mit langsamem Handverstrecken lassen sich Nachreckverhältnisse bis zum Faktor von knapp 2 erreichen. Zwar sind die Effekte an der P3HB-Probecharge Biocycle FE-94 in extremer Form nachgewiesen, jedoch treten diese abgestuft auch bei qualitativ besseren P3HB-Chargen auf.

Kurze Zeit nach dem Schmelzspinnen waren die Fäden aus P3HB BioCycle FE-94 in der Konsistenz wesentlich plastischer als die Fäden aus P3HB Biopol Monsanto (Lot M17), wobei die Tests jeweils zu gleichen Zeiten nach den Spulenwechseln vorgenommen wurden. Der wesentlich stärkere plastische Zustand der Fäden aus P3HB

BioCycle FE-94 ändert sich über Wochen bei Raumtemperatur sehr langsam, während bei Fäden aus P3HB Monsanto (Lot M17) ein „Fast-Endzustand“ spätestens Stunden bis Tagen (je nach Reckverhältnis) nach dem Schmelzspinnen bei Raumtemperatur eintritt.

Tabelle 3: Anfängliche Faden-Abwickelbarkeit von gekühlten Originalspulen des Schmelzspinnens von P3HB Biocycle FE-94 vom 11. 08. 05 sowie Reckverhältnisermittlung beim langsamen Recken von Hand bis zum Riss

Herkunftsspule	Bemerkungen zur Abwickelbarkeit, Prüfung am 19.08.2005	Reckverhältnis beim Schmelzspinnen	Reckverhältnis beim langsamen Recken von Hand (bis Riss)
050811-1	leicht rupfend	1	1,45
050811-3	Stärker rupfend als RT-Spulen, strukturiert vom Wickeln (Changiermuster)	2	1,95
050811-7	leicht rupfend	1,5	2,05
050811-9	leicht rupfend	1,6	1,9
050811-11	leicht rupfend	1,8	1,5
050811-15	rupfend	1,8	1,1 ... 1,12
050811-17	leicht rupfend	2,0	1,15

Die Definition „Fast-Endzustand“ ist deshalb gerechtfertigt, weil die schleichende Nachkristallisation bei P3HB-Monsanto-Fäden auf den Spulen durch die sich aufbauende Spannung sich verkürzender Spulenwindungen an eine Grenze stößt. Entspannt man die Spulenwindungen durch Zerschneiden, so erfolgt eine zeitabhängige Verkürzung der Spulenwindungen, was mit einer weiteren Nach- und eventuell auch Umkristallisation einhergeht.

Der Exkurs in Teile des Polymer- und Technologieteils des Schmelzspinnens der PHB erscheint notwendig, um das teilweise Versagen der einstufigen und das bisherige fast völlige Versagen der zweistufigen Präparation mit sich nicht untereinander mischenden Komponenten zumindest phänomenologisch erklären zu können.

In Abbildung 5 sind die zwei Grenzfälle bezüglich der Anordnung der Filamente im PHB-Faden dargestellt. Links in der Abbildung sind die Filamente bandförmig adhesiv (z. Teil auch über Anlöse- und amorphe Klebewirkung) über die Spinnpräparation verbunden, der Faden wurde ohne Nukleierung der PHB-Schmelze hergestellt. Im rechten Bildteil ist die lose Filamentanordnung eines PHB-Fadens, hergestellt aus

nukleierter P3HB-Schmelze (Nukleierungsmittel α -Cyclodextrin; vgl. /Vogel, R. et al. Macromolecular Bioscience 6 (2006) 9, 730 – 736/), zu sehen. Die verbesserte und vollständiger ablaufende spannungsinduzierte Kristallisation und damit verbundene Bildung kleinerer Kristallite verringert den amorphen P3HB-Anteil an der Filamentoberfläche so stark, dass der reine Adhäsivanteil auf einer stark hydrophobierten Filamentoberfläche der üblich verwendeten Silastol-Präparation nicht mehr ausreicht, die Filamente zusammenzuhalten. Die Anlöse- und amorphe Klebewirkung zwischen den Filamenten ist weitestgehend verschwunden.



Abb. 5 : Vergleich der Konsistenz von PHB-Fäden, links herkömmlich schmelzgesponnener Faden, rechts mit α -Cyclodextrin als Nukleierungsmittel; Präparation in beiden Fällen Silastol 1:4

Das vollständige Filamentieren des nukleierten Fadens hat Vor- und Nachteile zugleich.

Will man beispielsweise für den elektrostatischen Flockprozess reine Filamentflockfasern einsetzen, so hat der nukleierte Faden den Vorteil, dass man diese beim Schneiden fast sortenrein gewinnen kann.

Der gleiche Faden beim Sticken eingesetzt, würde nur mit einer Nachpräparation für den Filamentzusammenhalt oder durch Zwirnen einen kontinuierlichen Betrieb ermöglichen.

Für den nukleierten Faden eine Schmelzspinnpräparation zu finden, welche die Filamente deutlich durch Adhäsion zusammenhält, wird sich als sehr schwierig erweisen, da die Oberfläche der Filamente so stark hydrophobiert ist, dass sie kaum von Flüssigkeiten benetzbar sind.

Tabelle 4: Übersicht zu den Anfangs-Abwickeltests von Originalspulen mit zweistufiger Präparation vom Schmelzspinnen am 07. 06. 06; eingesetztes Material: Biocycle® 1000, Fa. Biocycle

Spulen- Bezeichnung	Eingesetzte Präparations- kombination	Subjektiv beurteilte Anfangs- Abwickelbarkeit * am 09. 06. 06	Subjektiv beurteilte Anfangs- Abwickelbarkeit * am 12. 06. 06	Subjektiv beurteilte Anfangs- Abwickelbarkeit * am 19. 06. 06
060607-9	A	gleichmäßig schwer (4) abwickelbar	gleichmäßig schwer (4) abwickelbar, leicht filamentierend	gleichmäßig schwer (4) abwickelbar, leicht fila- mentierend
060607-10	A	nicht abwickelbar (5), 10.05 Uhr halb aufge- schnitten	nicht abwickelbar (5), Schwindung 11.05 Uhr - 11 mm	nicht abwickelbar (5), Schwindung 9.00 Uhr - 11 mm 2. Hälfte am 20. 06. 06 aufgeschnitten, 15.00 Uhr – 2 mm Schwin- dung, 17.15 Uhr – 4 mm Schwindung, 21. 06. 06, 14.30 Uhr – 5,5 mm
060607-11	A	(4) abwickelbar	(2) abwickelbar	(2) abwickelbar
060607-12 #	A	(4) abwickelbar	ruppend (2) – (3) zonal verschieden abwickelbar	nach Stickversuch nicht mehr abwickelbar,
060607-13 #,	A	(3) abwickelbar	(1) abwickelbar	nach Stickversuch (3) abwickelbar, teilweise Filamentrisse
060607-14	B	nicht abwickelbar (5), 10.15 Uhr halb aufge- schnitten	nicht abwickelbar (5), Schwindung 11.05 Uhr – 10 mm	nicht abwickelbar, Schwindung 9.00 Uhr – 10 mm
060607-15 #	B	(2) abwickelbar	(1) abwickelbar	nach Stickversuch nicht mehr abwickelbar
060607-16	B	nicht abwickelbar, kein Anfang	nicht abwickelbar, kein Anfang	nicht abwickelbar (5), kein Anfang
060607-17 #	B	(1) abwickelbar	(1) abwickelbar	nach Stickversuch nicht mehr abwickelbar
060607-18	B	filamentiert stark	filamentiert stark	filamentiert stark
060607-19	B	(2) abwickelbar	(1) - (2) zonal ver- schieden abwickelbar	(1) - (2) zonal verschie- den abwickelbar
060607-20	B	(2) abwickelbar, par- tiell filamentierend	(2) abwickelbar,	(2) abwickelbar, partiell filamentierend

* Subjektive Skala der Anfangsabwickelbarkeit von 1 – 5: 1... sehr leicht, 5... Faden reißt beim Abwickelvorgang von der Spule ab

Die erste Versuchsserie, schmelzgesponnene Fäden aus nicht nukleierter P3HB zweistufig mit sich nicht mischenden Präparationen auszuführen, hatte zwei Gründe,

zum Ersten einen P3HB-Faden mit gutem Filamentzusammenhalt zu bekommen (Adhäsion und Klebefunktion der Präparation 1), welcher auch gut kontinuierlich unverzwirnt verstickbar ist und zum Zweiten eine gute Abwickelbarkeit erreicht (Trennmittelfunktion der Präparation 2 zwischen den Spulenlagen). Dieser P3HB-Faden wäre dann auch sehr gut geeignet, mit der „Schneid-Guillotine“ einheitliche Fadenflockfasern zu erzeugen, die für biomedizinische Fälle eingesetzt würden, bei denen die Eulersche Knicklast von Filamentflockfasern (eventuell auch bei profilierten Filamenten) nicht ausreichen würde.

Tabelle 5: Zusammensetzung der zweistufigen Schmelzspinn-Präparationspaare A und B

Präparationspaar	Einzelpräparation	Zusammensetzung
A	A1	Marlazel 01 (37 g Marlazin OL2 von SASOL; 74 g Pelargonsäure + 87 g Ethanol (99 %))
	A2	Silastol 5054/3 (Fa Schill & Seilacher)
B	B1	R720 (Fa Schill & Seilacher - 345 g) + 115 g Ethanol (99 %)
	B2	Paraffin (Merck, Paraffin, dünnflüssig, 1 l, Bestell-Nr.: 1.07174.1000)

Die Ergebnisse zu den Abwickelbarkeiten zweistufig präparierter P3HB-Fäden sind in Tabelle 4 dargestellt (Tabelle 6 Silastolpräparierte Spulen zum Vgl.). Das Ziel, durch ein Entmischungsverhalten der beiden Präparationen während der Spulenlagerung die Trennmittelfunktion von Präparation 2 zwischen den Spulenlagen zu realisieren, konnte noch nicht erreicht werden. Mehrere Ursachen werden diskutiert. Das Festhalten an dem Grundkonzept der zweistufigen Präparation soll mit einem weiterführenden Projekt unterstützt werden.

Aus den ersten Versuchen kann nur vermutet werden, dass im dynamischen System des Schmelzspinnens sich aus dem amorphen P3HB-Oberflächenanteil der Filamente und beiden Präparationen ternäre und höhere Mischungen gebildet haben, bei denen durch Lösungsvermittlung einer Komponente die Entmischbarkeit der beiden Präparationen teilweise oder ganz aufgehoben ist. Dies führt dann zwangsläufig zum Verkleben der Filamente und der ganzen Spulenlagen.

Tabelle 6: Darstellung der Anfangs-Abwickelbarkeit per Hand der am 07. 06. 06 zu Beginn des Schmelzspinnens hergestellten Spulen mit der Silastol-Standardpräparation; eingesetztes Material: Biocycle® 1000, Fa. Biocycle

Spulen- Bezeichnung	Eingesetzte Präparation	Subjektiv beurteilte Anfangs- Abwickelbarkeit * am 19. 06. 06
060607-1	Silastol 5055: 5054/3 = 1:4	sehr leichte Anfangsabwickelbarkeit
060607-2	Silastol 5055: 5054/3 = 1:4	20 sek-Spule, sehr leichte Anfangsabwickelbarkeit, aber filamentierend (teilweises Aufsaugen des Silconöls durch die Spulenpappe)
060607-3	Silastol 5055: 5054/3 = 1:4	sehr leichte Anfangsabwickelbarkeit
060607-4	Silastol 5055: 5054/3 = 1:4	sehr leichte Anfangsabwickelbarkeit
060607-5	Silastol 5055: 5054/3 = 1:4	30 sek-Spule, sehr leichte Anfangsabwickelbarkeit, aber filamentierend (teilweises Aufsaugen des Silconöls durch die Spulenpappe)
060607-6	Silastol 5055: 5054/3 = 1:4	sehr leichte Anfangsabwickelbarkeit
060607-7	Silastol 5055: 5054/3 = 1:4	sehr leichte Anfangsabwickelbarkeit
060607-8	Silastol 5055: 5054/3 = 1:4	sehr leichte Anfangsabwickelbarkeit

Durch die Nachkristallisation auf den Spulen und daraus folgende Filamentverkürzung wäre auch die Erzeugung einer partiellen Druckmischbarkeit dreier oder mehr Komponenten an den Fadenkreuzungsstellen auf den Spulen denkbar, was ebenfalls einen Klebeeffekt nach sich zieht. Diese angedeuteten Sachverhalte sollen Gegenstand eingehenderer Untersuchungen in o. g. neuem Projekt werden.

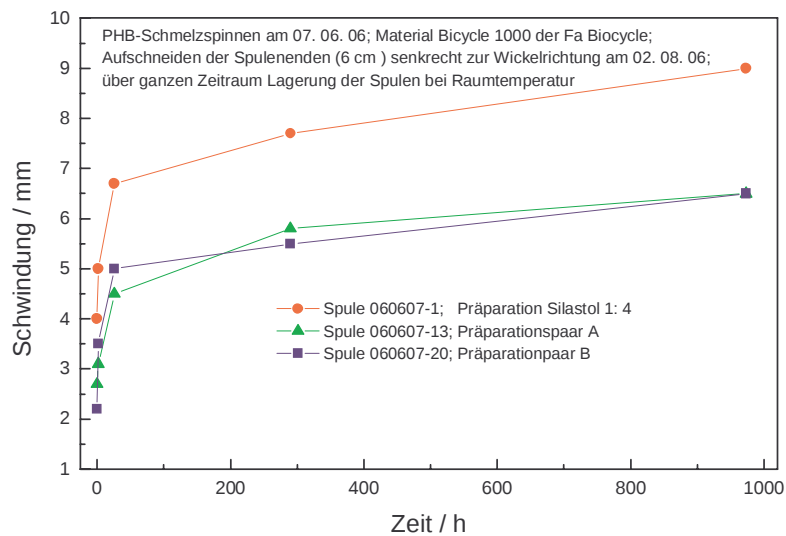


Abb. 6: Zeitabhängigkeit der Fadenlängenschwindung nach Aufschneiden der P3HB-Spulen senkrecht zur Wickelrichtung (Spulenenden) für drei verschiedene Präparierungen beim Schmelzspinnen

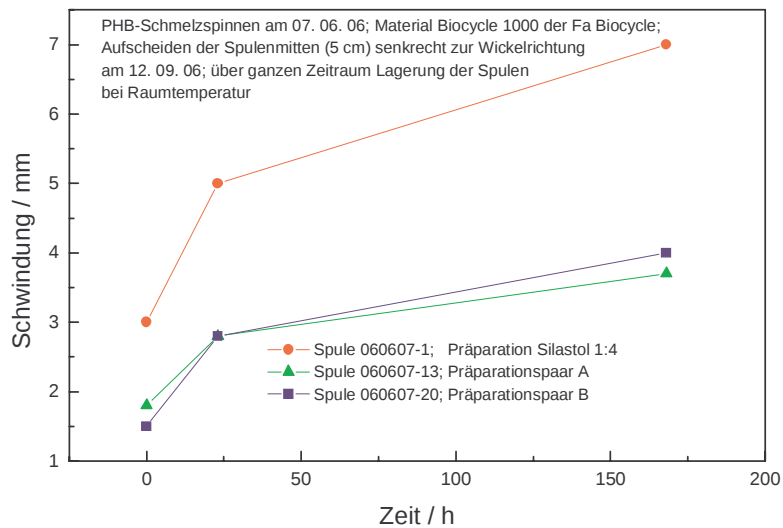


Abb. 7: Zeitabhängigkeit der Fadenlängenschwindung nach Aufschneiden der P3HB-Spulen senkrecht zur Wickelrichtung (Spulenmitte) für drei verschiedene Präparierungen beim Schmelzspinnen

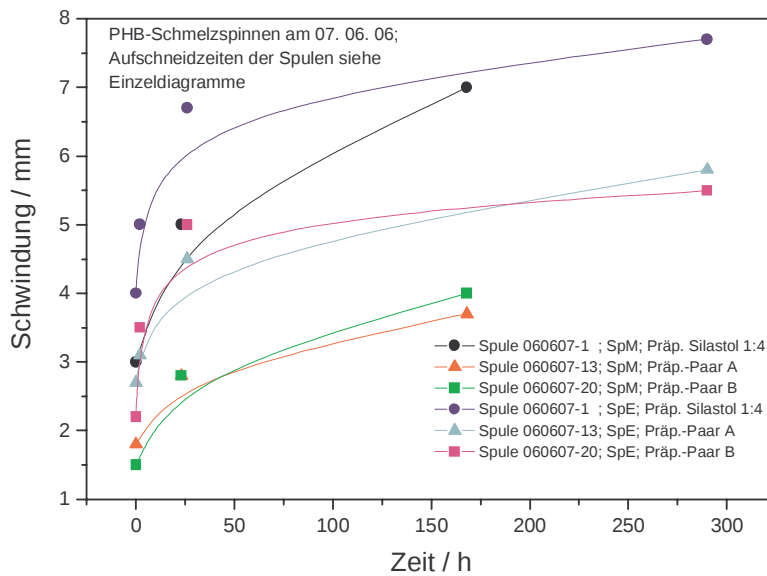


Abb. 8: Paarweiser Vergleich der Zeitabhängigkeit der Fadenlängenschwindung (jeweils Spulenmitte und Spulenende) nach Aufschneiden der P3HB-Spulen senkrecht zur Wickelrichtung für drei verschiedene Präparierungen beim Schmelzspinnen

Die durch Aufschneiden der Spulen senkrecht zur Wickelrichtung gewonnenen Ergebnisse der spannungslosen Fadenschwindung stützen indirekt die Thesen der ternären und höheren Mischbarkeit (Abb. 6 – 8), da im Vergleich zu den silastolpräparierten Spulen ein etwas anderes Um- und Nachkristallisationsverhalten der zweistufig präparierten Fäden zu konstatieren ist.

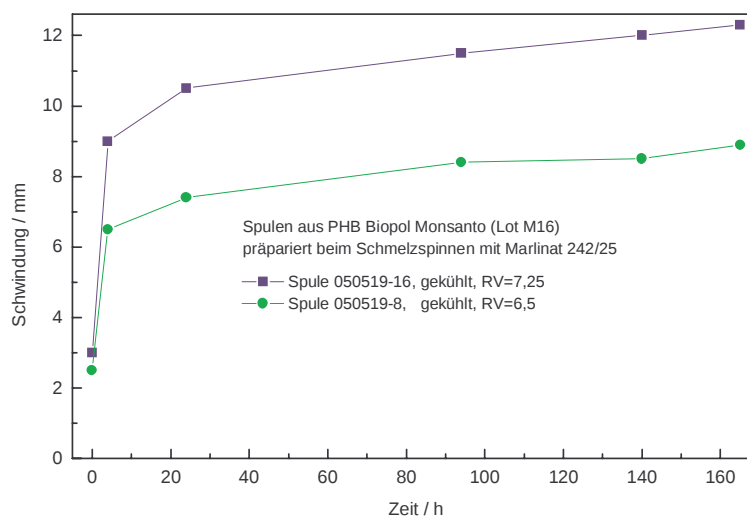


Abb. 9: Zeitabhängigkeit der Fadenlängenschwindung von sofort nach dem Schmelzspinnen gekühlten Spulen nach Aufschneiden der P3HB-Spulen senkrecht zur Wickelrichtung für zwei verschiedene Reckverhältnisse; Material: P3HB Biopol Monsanto Lot M16

Dass die spannungslose Um- bzw. Nachkristallisation der P3HB-Fäden immer deutlich mit der „Vorgeschichte“ des Fadens zusammenhängt, erkennt man an den unterschiedlichen Schwindungsmaßen (Abb. 9) von P3HB-Fäden mit unterschiedlichen Reckverhältnissen bei sonst gleichen Bedingungen im Extruder- und Spinnpumpenteil bis zum Schmelzeaustritt aus den Düsen im Herstellungsprozess.

Schaut man sich die drei Diagramme in Abb. 6 – Abb. 8 an, so stellt man fest, dass innerhalb der ersten 10 –20 Stunden Entscheidendes beim Um- und Nachkristallisieren passieren muss, wenn durch das Zerschneiden die durch das Nachkristallisieren nach dem Schmelzspinnen aufgebaute Umfangsspannung vom Faden genommen wird. Diese ermittelten Fadenlängenschwindungen sollten auch indirekt einen Einfluss auf die Qualität der daraus hergestellten Gesticke haben.

Wird beispielsweise beim Sticken der Oberfaden direkt durch Abwickeln von der Originalspule bezogen, so bewirkt das Entspannen des Fadens einen ähnlichen Effekt wie oben beschrieben. Da der Unterfaden jedoch grundsätzlich vor dem Sticken auf eine kleine Spule umgewickelt werden muss und dann eventuell noch einige Tage auf Vorrat lagert, so hat dieser Faden bereits einen Großteil der „Biographie“ des spannungslosen Um- und Nachkristallisierens durchlaufen, während dieser Prozeß für den Oberfaden zum großen Teil erst während der Lagerung der Gesticke abläuft.

Inwieweit sich diese Sachverhalte, wenn überhaupt, negativ auf mechanische und biomedizinisch verwertbare Eigenschaften der Gesticke auswirken, muss in weiterführenden Untersuchungen geklärt werden.

Die Palette an Versuchen mit zweistufiger Präparation ist insoweit noch nicht ausgereizt, dass erstens Untersuchungen mit nukleiertem P3HB-Faden noch ausstehen und zweitens jeweils eine der beiden Präparationen durch Suspendieren fester Antistatika (z. B. Calciumstearat) noch modifiziert werden können.

1.5 Chemisch-physikalische Untersuchungen an der erkalteten P3HB-Schmelze

Es ist bekannt, dass P3HB sich in der Schmelze langsam zersetzt. Von Interesse ist, welche Anteile an Abbauprodukten sich nach dem Schmelzspinnen innerhalb der Filamente des Fadens befinden. Da hoher Durchsatz geringe Verweilzeit bedeutet und umgekehrt geringer Durchsatz hohe Verweilzeit, werden sich je nach der gesponnenen Filamentanzahl die Anteile an Abbauprodukten in den Filamenten noch einmal unterscheiden, wenn man etwa vergleichbare Filamentdurchmesser unterstellt.

Zum Zweck der Untersuchung auf Abbauprodukte in der P3HB-Schmelze wurde die Überlegung dahingehend geführt, das langsam erkaltete P3HB-Zylinderstück aus dem Schmelzekanal hinter dem Sieb der Schmelzspinn Düse zu verwenden. Bis an diese Stelle hat die P3HB-Schmelze etwa 80 % - 90 % der Schmelzeverweilzeit durchlaufen, die zu bestimmende Menge an Abbauprodukten ist näherungsweise repräsentativ für deren Gehalte in den Filamenten.

Die erkaltete P3HB-Schmelze wurde etwa fünf Wochen bei Raumtemperatur in Chloroform gequollen. Der kompakte P3HB-Zylinder zerfiel bei dieser Prozedur in drei Fraktionen, eine davon chloroformlöslich. Aus einem, durch das Chloroform kaum angegriffenen P3HB-Rohr (Rohrwandstärke etwa 0,8 mm) ließ sich das innere P3HB in bröseliger Form herausdrücken. Nach Abfiltrieren der Chloroformlösung und Ab-

trennen des Chloroforms mittels Rotationsverdampfer blieb eine dritte feste Fraktion zurück.

Alle drei Fraktionen wurden nach Trocknung bis zur Massekonstanz mittels Elementaranalyse untersucht. In Tabelle 7 sind die gefundenen C-, H- und N-Werte im Vergleich zu den berechneten Werten dargestellt. Es zeigt sich, dass die beiden kristallinen, bei Raumtemperatur chloroformunlöslichen PHB-Fractionen eine gute Übereinstimmung der gemessenen Elementaranalysen-Werte mit den theoretisch berechneten Werten besitzen. Zum Vergleich wurden weiterhin die Zusammensetzungen von zwei Wirren vom Schmelzspinnen von P3HB Biopol am 30. 06. 04 und am 09. 07. 04 mittels Elementaranalyse bestimmt. Auch diese Werte zeigen eine recht gute Übereinstimmung mit den berechneten Werten.

Die chloroformlösliche Fraktion hat einen höheren Kohlenstoffwert als die bei Raumtemperatur unlöslichen Fraktionen. Selbst wenn man an relativ niedermolekulare P3HB-Moleküle (M_v etwa 50 000 g/mol) beidseitig Crotonsäure an die Enden binden würde, erklärte dies noch nicht die große Differenz zum Kohlenstoffwert des P3HBM-Pulvers. Das heißt, es muß noch innerhalb der Kettenmoleküle Wasserabspaltungen ohne Kettenbruch und daraus folgend zusätzlich Doppelbindungsbildung geben. Bezüglich der Gesamteinwaage des P3HB-Zylinders aus dem Schmelzekanal der Spinndüse handelt es sich bei der bei Raumtemperatur chloroformlöslichen Fraktion um einen Anteil von 1,6 %. Die Bildung endständiger Crotonsäure bei P3HB ist bereits von Seebach et al. /A./ beschrieben.

Für P3HB-Fractionen aus dem gesamten Schmelzebereich beim Schmelzspinnen (Granulaterzeugung sowie Extrudieren beim Schmelzspinnen) wurde die endständig beim Abbau am P3HB gebundene Crotonsäure zuerst von G. Schmack und H. Komber (G. Schmack, H. Komber, bisher unveröffl. Ergebnisse) nachgewiesen.

Der Nachweis der freien Crotonsäure in P3HB-Schmelzen bei längerer thermischer Belastung am Schmelzpunkt gelang L. Peitzsch und H. Komber (L. Peitzsch, H. Komber, bisher unveröffentlichte Ergebnisse).

Für den Nachweis der gebundenen Crotonsäure wurde eine beim Schmelzspinnen thermisch belastete P3HB-Probe (Wirre) sofort in deuteriertem Chloroform gelöst und mittels ^1H -NMR-Spektroskopie untersucht. Aus den integralen Intensitätsverhältnissen der Protonen der Crotonsäureenden und der Protonen der P3HB-Kette waren Werte von 0,3 : 1000 (P3HB-Granulat) bis 1,4 : 1000 (innerhalb des Düsenpaketes) festgestellt worden. Das heißt, zeitlich steigende thermische Belastung des P3HB in der Schmelze steigert auch über den Abbau die Zahl der Crotonsäureenden (Das Granulat wurde über Schmelzextrusion gewonnen).

Tabelle 7: Elementaranalysen-Werte der drei aus dem Schmelzezyylinder gewonnenen P3HB-Fractionen (Durchschnittswerte aus Doppelbestimmungen, N* - geringe gefundene Stickstoffgehalte sind auf Reste von Bakterienenzymen bzw. Zellbestandteilresten zurückzuführen)

PHB-Fraktion	Gehalte in Ma.-%			
	C	H	O	N*
P3HB, berechnete Zusammensetzung	55,805	7,025	37,17	0,00
P3HBM, Originalpulver	55,98	7,087	-	0,09
P3HB-Rohr	55,76	7,00	-	0,079
P3HB, bröselig	55,77	7,027	-	0,075
P3HB-Wirre vom 30. 06. 04	55,39	7,084	-	0,069
P3HB-Wirre vom 09 07. 04	55,81	6,867	-	0,076
P3HB-Fraktion, chloroformlöslich	60,05	8,11	-	0.27

Für den Nachweis der freien Crotonsäure wurde die bei Raumtemperatur in Chloroform lösliche P3HB-Fraktion einer größeren Wirremenge verwendet. Die P3HB-Lösung wurde bei Raumtemperatur in großen Petrischalen unter dem Abzug bis zur Trockene eingedunstet, die entstandene P3HB-Folie in ein Sublimationsgefäß gefüllt

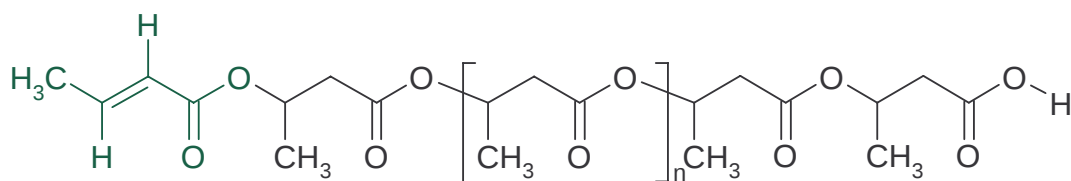


Abb 10: Struktur von P3HB mit gebundener Crotonsäure als Kettenende

und das Gefäß mit Wasserstrahlvakuum kurz evakuiert. Nach Erwärmung des Sublimationsgefäßes auf etwa 35 °C schieden sich am wassergekühlten Sublimationsfinger innerhalb von 40 Minuten kleine wasserklare, bis 2 mm lange Kristalle in Form eines Rasens ab. Die Kristalle wurden in deuteriertem Chloroform gelöst und mittels ^1H -NMR-Spektroskopie untersucht.

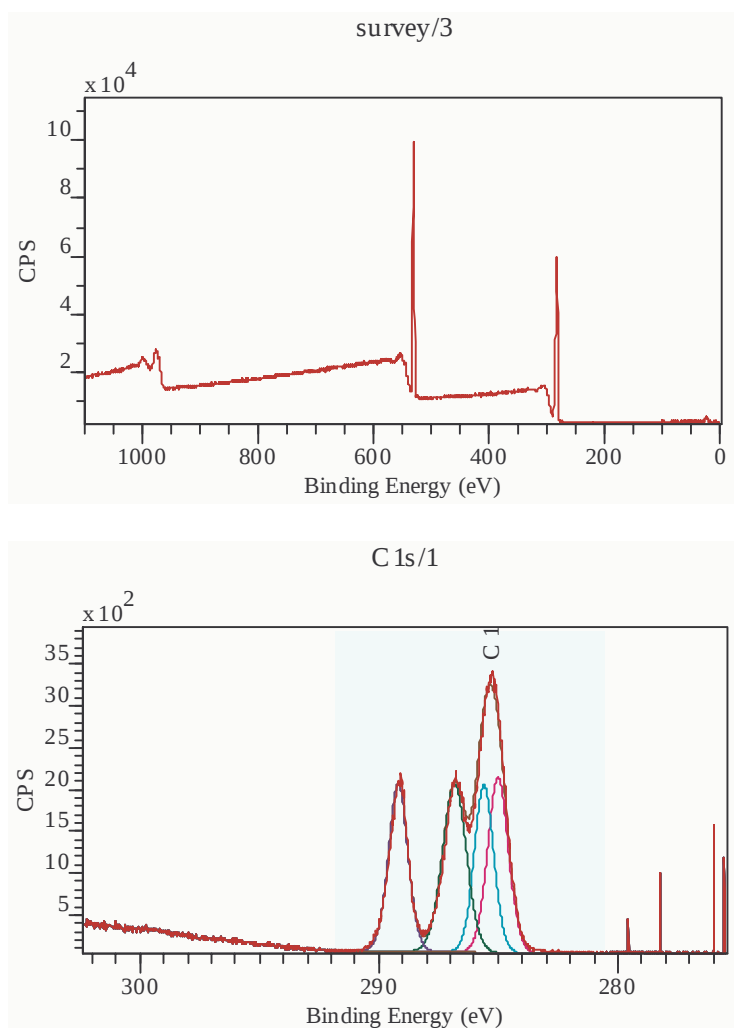
Die Kristalle bestanden zu etwa 99,2 % aus Crotonsäure, bezogen auf die eingewogene Menge P3HB-Folie entspricht das einem Anteil von 5,2 %. Da der Anteil der bei Raumtemperatur chloroformlöslichen P3HB im konkreten Fall sich auf 2,3 % belief,

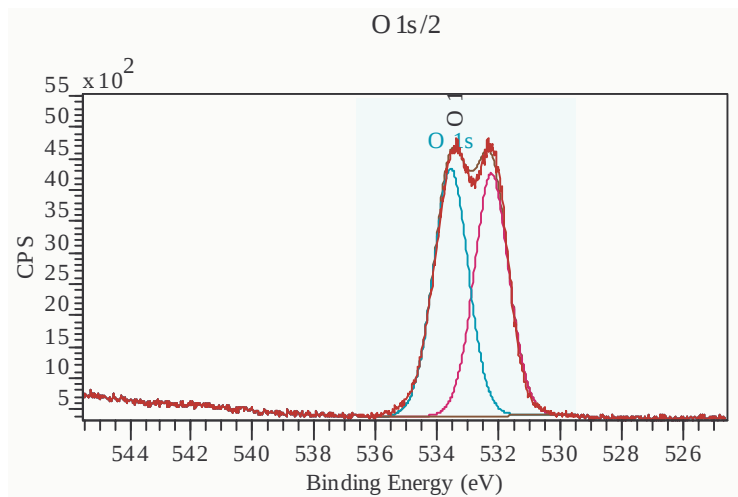
beträgt der Anteil an freier Crotonsäure bezogen auf die Gesamteinwaage an erkalteter P3HB-Schmelze etwa 0,012 %.

Bei den rund 0,8 % Nebenprodukt handelt es sich um einen noch nicht ganz genau identifizierbaren β -Hydroxybuttersäureester.

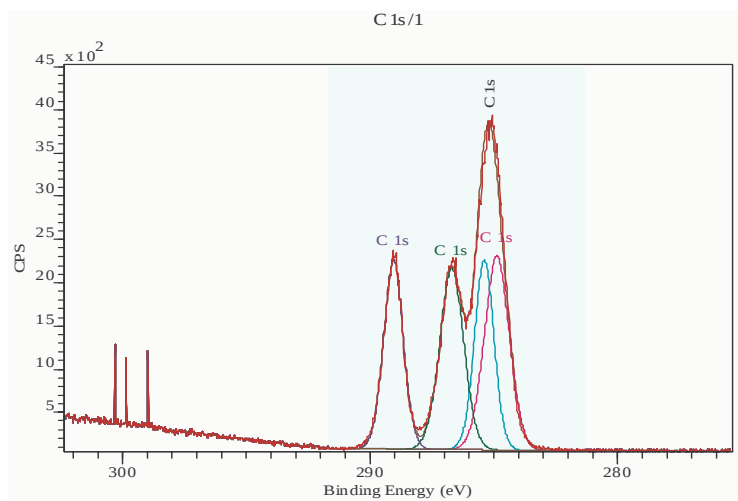
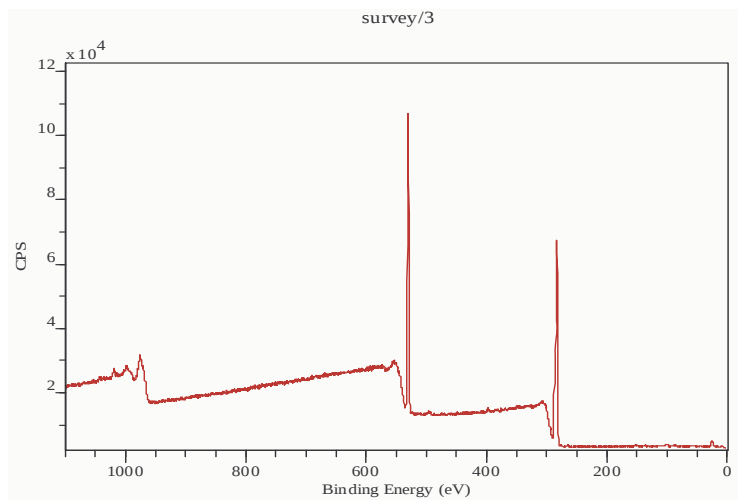
Für zwei Proben vom „P3HB-Rohr“, an denen entsprechend Tabelle 7 die EA-Werte bestimmt wurden, wurde mittels XPS der Nachweis geführt, dass es sich nach der Schmelzeerkaltung im Düsenkanal wirklich noch um Poly(hydroxybuttersäure) und nicht um ein Isomerisierungsprodukt mit gleicher elementchemischer Zusammensetzung handelt.

Probe PHB-Vh-3 (P3HB-Rohr):





Probe PHB-Vh-4 (P3HB-Rohr – Aufweitung zum Filter):



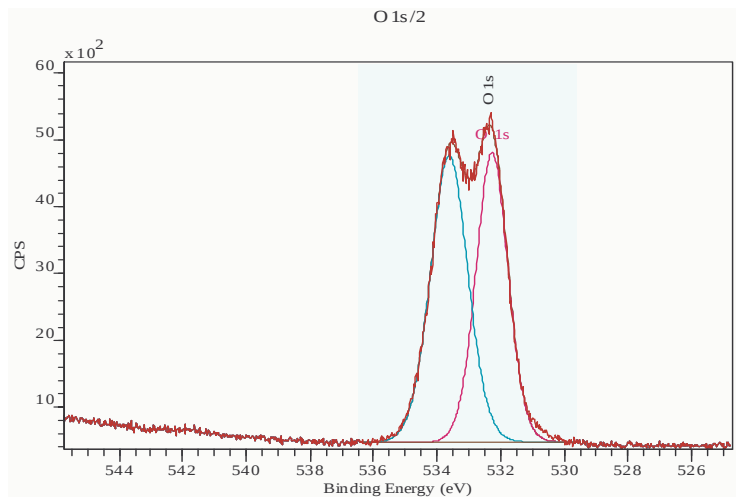


Abb. 11: XPS-Spektren zum Nachweis, dass die erkaltete Schmelze überwiegend aus P3HB besteht (strukturelle Ergänzung zur EA-Untersuchung des schmelzextrudierten P3HB)

Literatur:

A. Müller, H.-M.; Seebach, D.

Poly(hydroxyfettsäureester), eine fünfte Klasse von physiologisch bedeutsamen organischen Biopolymeren?

Angew. Chemie **1993**, 105, 483 – 509.

2. Voraussichtlicher Nutzen im Sinne des Verwertungsplanes

Das Unterprojekt wurde in der Abt. MF des Leibniz-Instituts für Polymerforschung Dresden e.V. erfolgreich realisiert. Benötigte Mengen an Fäden aus P3HB-Pulver für die geplanten Versuche wurden erfolgreich im Online-Spinnstreckprozess (Schmelzspinnen) ersponnen und zur Herstellung der Scaffolds zur Verfügung gestellt. Neue Erkenntnisse für das Schmelzspinnen von P3HB wurden erworben. Der störungsfreie Einzug von Pulver und kompaktiertem P3HB konnte realisiert werden. Eine signifikante Erhöhung der Langzeitstabilität des Schmelzspinnprozesses wurde durch den Einbau von statischen Mixern in die Schmelzeleitung des Spinnkopfes erreicht.

Das Projekt hat eine gute Ausgangsposition für die Neueinwerbung weiterer Forschungsprojekte auf diesem Gebiet ergeben. Weiterhin wurden mit den erreichten Ergebnissen die Voraussetzungen geschaffen, um für andere Projekte und Aufgaben der Haushaltforschung P3HB-Fäden in gewünschten Mengen und textilen Feinheiten zur Verfügung stellen zu können.

3. Bekannt gewordene Fortschritte bei Stellen mit ähnlichem Forschungsprofil

Seit 2004 existiert ein joint-venture der Firmen Nodax (Japan), Kaneka (Japan) und Procter&Gamble (USA). Einer der Gründer der Fa. Nodax ist Herr Isao Noda, welcher vorher für Procter&Gamble zahlreiche Patente angemeldet hat. Ziel des joint-venture ist die Markteinführung einer Gruppe von biodegradierbaren Polyhydroxyalkanoate, die bei der PHB beginnt und bis zu Polyhydroxyhexanoaten reichen soll.

Von Herrn Noda gibt es außerdem eine Veröffentlichung zum Schmelzspinnen von Polyhydroxyhexanoat. Da dieses Material extrem langsam kristallisiert, ist ein normaler Schmelzspinnprozess nicht möglich. Das Material wird in einem Bikomponentenprozess versponnen und dabei mit einem Mantel aus bioabbaubaren Polylaktid versehen, welches sehr zügig kristallisiert und damit günstige mechanische Eigenschaften des Bikomponentenfadens erbringt.

Noda, I., Satkowski, M. M., Dowrey, A. E., Marcott, C.

Polymer Alloys of Nodax Copolymers and Poly(lactic acid)

Macromol. Biosci. 4 (2004) 269-275

Polylaktid kann aber im menschlichen Körpergewebe nicht metabolisiert werden und stellt damit eine zusätzliche Belastung für dar.

4. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen

Die Ergebnisse wurden in einer Veröffentlichung und zwei Vorträgen präsentiert.

R. Vogel, B. Tändler, L. Häussler, D. Jehnichen, H. Brünig

Melt Spinning of Poly(3-hydroxybutyrate) Fibers for Tissue Engineering using α -Cyclodextrin/Polymer Inclusion Complexes as Nucleation Agent

Macromolecular Bioscience 6 (2006) 9, 730-736

H. Brünig, B. Tändler, R. Vogel

Schmelzspinnen von feintitrigen biokompatiblen Polyhydroxybuttersäure (P3HB) – Filamentgarnen

Vortrag

45. Chemiefasertagung, Dornbirn, Österreich, 20. – 22. September 2006

D. Reiche, Tändler, B., L. Peitzsch, R. Vogel, H. Brünig

Melt spinning of biocompatible P3HB fibres for flock applications

Vortrag

8. Dresdner Textiltagung, Dresden, 21. - 22. Juni 2006

Anhang

In den folgenden Tabellen sind ausführlich die typischen Parameter des PHB-Schmelzspinnens, die Daten der textphysikalischen Eigenschaften der erzeugten PHB-Fäden (PHB Monsanto – dem hauptsächlich untersuchten P3HB-Material) dargestellt. Weiterhin sind die Umwickeldaten von sofort nach dem Schmelzspinnen im Kühlschrank gelagerten PHB-Spulen mit der DIENES-Verstreckmaschine sowie die Zusammensetzung der eigenentwickelten Schmelzspinnpräparation „**ParCarbPräp01**“ aufgeführt.

Im Folgenden sind die wichtigsten Symbole der unten aufgeführten Tabellen erklärt:

Teil 1: Materialeinzug in den Extruder bis zum Schmelzeaustritt aus der Spinndüse:

A) Extruder

T_{Einz} [°C]	Temperatur am Extrudereinzug
$T_{1\text{ExHei}}$ [°C]	Temperatur der Extruderheizung 1
$T_{2\text{ExHei}}$ [°C]	Temperatur der Extruderheizung 2
$T_{3\text{ExHei}}$ [°C]	Temperatur der Extruderheizung 3
$T_{4\text{Sch}}$ [°C]	Temperatur am Extruderkopf
$T_{5\text{Fl.1}}$ [°C]	Temperatur am Flansch zum Übergangsstück zum Spinnkopf
$T_{\text{Mas.}}$ [°C]	Masstemperatur, Messkopf kombiniert mit Druckmessung am Extruderausgang
$T_{7\text{SL1}}$ [°C]	Temperatur

B) Spinnkopf

$T_{1\text{Fl.1}}$ [°C]	Temperatur am Flansch
$T_{2\text{SL2}}$ [°C]	Temperatur der Schmelzeileitung
$T_{3\text{SPp}}$ [°C]	Temperatur an der Spinnpumpe
$T_{\text{Mas.}}$ [°C]	Masse-Temperatur im Düsenbereich
$T_{5\text{NHZ}}$ [°C]	Temperatur des Heizers zum Nachheizen des austretenden Fadens
$T_{6\text{NHZ}}$ [°C]	Temperatur des Heizers zum Nachheizen des austretenden Fadens
p_{Sp} [bar]	Spinndruck

Teil 2: Vom Schmelzeaustritt aus der Spinndüse bis zum Aufwickeln des Fadens:

T_{ber}	[tex]	Titer berechnet
v_{G1}	[m/min]	Geschwindigkeit des Galettenduos 1
v_{G2}	m/min]	Geschwindigkeit des Galettenduos 2
v_{G3}	[m/min]	Geschwindigkeit des Galettenduos 3
v_{wi}	[m/min]	Geschwindigkeit des Wickers
RV_1		Reckverhältnis zwischen Galettenduos 1 und Galettenduos 2
RV_2		Reckverhältnis zwischen Galettenduos 2 und Galettenduos 3
RV_3		Reckverhältnis zwischen Galettenduos 3 und Wicker
RV_{Ges}		Gesamtreckverhältnis
$U_{1/2/3}$		Zahl der Fadenumschlingungen auf den Galettenduos
T	[min]	Laufzeit der Spule

Teil 3: Textilphysikalische Eigenschaften:

D	[μm]	Durchmesser der Filamente
ϵ_H	[%]	Dehnung bei Maximalkraft
R_H	[MPa]	Höchstzugkraft
σ	[MPa]	Physikalische Bruchspannung (auf Querschnitt bezogen)
E	[GPa]	Elastizitätsmodul
ΔH	[J/g]	Schmelzenthalpie
Δn		Doppelbrechung

Umwickeln mit der Verstreckmaschine DIENES
(Spulen aus Kühlschrank im Spulenkern weiter mit Trockeneis gekühlt, gesamte Spule zur Wärmeisolierung polystyrolum-
haust)

		Rolle1				Platte12	Rolle2				Platte23	Rolle3							
Herkunft	SpNr	W1	V1	RV1/2	T1	T	W2	V2	RV2/3	T2	T	W3	V3	T3	Ansp	Chang	Laufz	Länge	
050621-9	1	8	32	1,5	26°	26°	8	49,5	1,0	26,8°	26°	18	25	25,7°	1,004	10	3'	150m	
050621-9	2	8	32	1,5	26°	26°	8	49,5	1,0	28,8°	26°	18	50	25,7°	1,004	10	2'	100m	
050621-1	3	8	32	1,5	40°	40°	8	50	1,0	40°	40°	18	50	40°	0,99	10	0,5'	25m	
050621-1	4	8	32	1,25	40°	40°	8	50	1,0	40°	40°	18	50	40°	1,0	10	3'40"	185m	
050621-11	5	8	48	1,02	35°	35°	8	50	1,0	35°	35°	18	50	40°	1,05	10	4'40"	230m	

050621-11	6	8	150	1,01	22�	22�	8	150	1,01	22�	22�	18	150	22�	1,04	10	5'	750m
-----------	---	---	-----	------	-----	-----	---	-----	------	-----	-----	----	-----	-----	------	----	----	------

- Legende:** W Zahl der Umschlingungen
 V Wickelgeschwindigkeit in m/s
 RV Reckverhältnis
 T Temperatur in  C
 Ansp Anspannung = 1/RVAnsp
 Chang Changierung
 Laufz. Laufzeit

Zusammensetzung der P3HB-Schmelzspinnpräparation „ParCarbPr p01“

Paraffin-Carbonsäure-Präparation mit folgenden Eckpunkten: 9,56 Masse% Gesamt-Carbonsäure; teilweise equimolare Anteile								
Carbonsäure	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	Summe
M	116,16	130,19	144,21	158,24	172,27	186,29	200,32	1107,68
m	3,1434	3,5294	2,6944	4,2875	4,668	4,768	5,504	28,5947
							270,5 g Paraffin	
							9,56 % Gesamt-Carbonsäure	
Für die Präparation wurde Paraffin der Firma Merck, Bestell-Nr. 1.07174.1000 (Katalog 2005)., verwendet.								