



BAYBIONIK

Projektverbund –
Von der Natur zur Technik

Abschlussbericht Teilprojekt Nr. 7

Bionische High-Tech-Materialien für optische Anwendungen II

Projektverbund BayBionik

Von der Natur zur Technik

Finanziert durch

Bayerisches Staatsministerium für
Umwelt und Verbraucherschutz
Rosenkavalierplatz 2
81925 München

Projektnehmer

Technische Universität München
Lehrstuhl für Biogene Polymere
Prof. Dr. Cordt Zollfrank
Schulgasse 16
94315 Straubing
Tel.: 09421 187 461
E-Mail: martin.reimer@tum.de
Web: www.cs.tum.de

Berichtszeitraum:

01. Januar 2019 bis 28. Februar 2022



finanziert durch
Bayerisches Staatsministerium für
Umwelt und Verbraucherschutz



Inhaltsverzeichnis

1	Kurzzusammenfassung	3
2	Einführung	4
3	Zielsetzung	5
3.1	Arbeitspaket 1:	5
3.2	Arbeitspaket 2:	5
3.3	Arbeitspaket 3:	5
3.4	Arbeitspaket 4:	5
3.5	Ursprünglicher Zeitplan und Meilensteinplanung	6
3.6	Meilensteine	6
4	Ergebnisse und Diskussion	7
4.1	Arbeitspaket 1:	7
4.1.1	Aufgabe 1: Bestimmung der optischen Eigenschaften der Regeneratcellulose	7
4.1.2	Aufgabe 2: Bestimmung der optischen Eigenschaften der Spinnenseidenproteine	12
4.2	Arbeitspaket 2:	17
4.2.1	Aufgabe 1: Herstellung von Lichtleitern aus den Biopolymere Cellulose und Spinnenseidenproteinen.....	17
4.3	Arbeitspaket 3:	25
4.3.1	Aufgabe 1: Erzeugung von (mono-)dispersen Biopolymernanokugeln bestehend aus Regeneratcellulose.	25
4.3.2	Aufgabe 2: Anpassung des Prozesses für die Herstellung von (mono-)dispersen Biopolymernanokugeln bestehend aus Spinnenseidenproteinen.....	31
4.4	Arbeitspaket 4:	31
4.4.1	Aufgabe 1: Aufbau und Charakterisierung komplexer Lichtwellenleiterarchitekturen nach dem biologischen Vorbild des Gießkannenschwamms <i>Euplectella aspergillum</i>	31
5	Veröffentlichungen im Rahmen des Projekts	35
6	Zusammenfassung	36
7	Bewertung und Ausblick	38
8	Literaturverzeichnis	39
9	Abkürzungsverzeichnis	40

1 Kurzzusammenfassung

Ziel des Projekts „Bionische High-Tech-Materialien für optische Anwendungen II“ war die Herstellung und Charakterisierung von Lichtwellenleitern aus den nachhaltigen Rohstoffen Cellulose und Spinnenseidenproteinen.

Um dies zu erreichen, wurden die Biopolymere in den entsprechenden Lösungsmittelsystemen gelöst und anschließend ausgefällt. Für die Verarbeitung der Cellulose wurde das binäre Lösungsmittelsystem aus Dimethylacetamid/Lithiumchlorid (DMAc/LiCl) eingesetzt. Der Auflösungsprozess wurde entsprechend optimiert, um eine farblose und klare Lösung zu erhalten. Die biotechnologisch hergestellten Spinnenseidenproteine eADF4 wurden im Kooperationsprojekt BionOptik I entsprechend mit einer Cellulosebindungsdomäne modifiziert. Hergestellte Cellulose Folien wurden über die Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie, Röntgenbeugung und die UV/VIS-Spektroskopie untersucht. Der Brechungsindex-Verlauf in Abhängigkeit der Wellenlänge wurde über die Transfer-Matrix-Methode ermittelt. Über ein einfaches Nassspinnverfahren wurden Cellulosefilamente hergestellt. Diese dienen als Kernstruktur der Lichtwellenleiter und wurden sowohl mit Cellulosederivaten, als auch mit den Seidenproteinen ummantelt, um biologische polymeroptische Fasern herzustellen. Die fabrizierten optischen Fasern bestehend aus Cellulose weisen hierbei die bisher niedrigste Dämpfung auf, die für optische Fasern auf Basis von Cellulose in der Literatur berichtet wurden. Über ein mathematisches Modell konnte die physikalische Limitierung der Dämpfung von Cellulose bestimmt werden. Dies zeigt, dass die Cellulose ein realistisches, kommerzielles Potential für die Verwendung als Lichtwellenleiter besitzt und in Zukunft fossil-basierte optische Fasern substituieren könnte. Für die Herstellung einer bionischen Lichtwellenleiterstruktur nach dem Vorbild des Gießkanenschwamms *Euplectella aspergillum* wurden Nanopartikel unterhalb von 100 nm aus der Cellulose hergestellt. Diese werden anschließend zu einer Faser verarbeitet. Eine Lichtleitung in der bionischen Faser konnte bisher noch nicht nachgewiesen werden.

2 Einführung

In der heutigen Zeit spielen Lichtwellenleiter in der technischen Optik eine besondere Rolle. Sie werden für die Datenkommunikation, der indirekten Beleuchtung oder auch als Faserlaser zur flexiblen Weiterleitung von Laserstrahlung eingesetzt.^[1]

Ein technischer Lichtwellenleiter besteht in der Regel aus einer hochtransparenten Kernstruktur mit einem Brechungsindex n_1 und einem umgebenden Mantel mit einem niedrigeren Brechungsindex n_2 . Wird elektromagnetische Strahlung unter einem kritischen Winkel θ_{\max} (Akzeptanzwinkel) in die Faserkernstruktur eingeleitet, kommt es an der Kern-Mantel-Grenzfläche zur Totalreflexion. Dies bedeutet, dass die Strahlung vollständig reflektiert und somit nicht zum äußeren Mantel entweichen kann, wodurch das Licht in der Kernstruktur verbleibt. Diese Reflexion tritt über die gesamte Länge der Faser auf und kann daher zur Wellenleitung genutzt werden. Wird die elektromagnetische Strahlung unter einem größeren Winkel als θ_{\max} eingeleitet, wird diese an der Kern-Mantel-Grenzfläche nicht mehr vollständig reflektiert und daher auch teilweise in den Mantel gebrochen. Dort steht die Strahlung nicht mehr uneingeschränkt für die Signalübertragung zur Verfügung. Der Aufbau und die daraus resultierende Nutzung von Lichtwellenleitern unterscheidet sich je nach verwendetem Material.^[1,2]

Zu den bekanntesten Vertretern der technischen Lichtwellenleiter gehören die Glasfasern. Deren Fabrikation benötigt jedoch Temperaturen oberhalb von 1000 °C, wodurch deren Herstellung sehr energieintensiv ist. Neben den Glasfasern existieren auch so genannte polymeroptische Fasern (POF), die bisher ausschließlich aus fossil-basierten Materialien wie Polymethylmethacrylat (PMMA), Polycarbonat (PC) oder Polystyrol (PS) bestehen und ähnliche Eigenschaften wie Glasfasern besitzen. POFs sind aufgrund ihrer Robustheit und Einfachheit in Anwendung und Konfektionierung ideal geeignet und werden vielfach im Automobilbau und in der Industrieautomatisierung eingesetzt.^[3]

Das Prinzip der Lichtleitung ist auch im Naturreich zu finden. Die Skelettstruktur des Gießkannenschwamms *Euplectella aspergillum* ist aus biomineralisierten Glasnadeln aufgebaut. Die Nadeln an der Basalfläche bestehen aus konzentrisch angeordneten alternierenden Schichten. Die anorganischen Schichten sind aus Glaskugeln im Nanometerbereich aufgebaut. Zwischen den Schichten befindet sich eine organische Substanz, um die Bruchfestigkeit zu erhöhen. Diese Fasern besitzen Lichtleitereigenschaften. Eine solche Materialarchitektur existiert für technische Lichtwellenleiter bisher noch nicht.^[4]

In dem Projekt sollen die Herstellung und Charakterisierung von polymeroptischen Fasern auf Basis von nachhaltigen grünen Biopolymeren, wie Cellulose und Spinnenseidenproteine, durch einen biologisch inspirierten Ansatz, nämlich der Materialarchitektur des Gießkannenschwamms, sowie unter moderaten Bedingungen entwickelt werden (BioPOF). Dadurch sollen Alternativen für die fossil-basierten Materialien PMMA, PC und PS generiert werden, um diese mittel- bis langfristig zu ersetzen. In diesem Projekt werden somit Hightech-Materialien konstruiert, die nach dem Gebrauch vollständig und umweltgerecht recycelt werden können.

3 Zielsetzung

Für die Herstellung von Lichtwellenleiterstrukturen bestehend aus Cellulose und Spinnenseide werden folgende Arbeitspakete bearbeitet.

3.1 Arbeitspaket 1:

Das Ziel ist die Ermittlung der relevanten optischen Eigenschaften der untersuchten Biopolymere Cellulose und Spinnenseidenproteine.

3.2 Arbeitspaket 2:

Das Ziel ist die Erzeugung von Lichtwellenleitern aus den untersuchten Biopolymere Cellulose und Spinnenseidenproteine.

3.3 Arbeitspaket 3:

Das Ziel ist die Herstellung von nanoskaligen Cellulosekugeln und die Entwicklung von Methoden zu ihrer Anordnung in definierten Strukturen.

3.4 Arbeitspaket 4:

Das Ziel ist die Generierung komplexer Architekturen aus Cellulosenanokugeln in Spinnenseidenproteinmatrices mit definierten Lichtwellenleitereigenschaften.

3.5 Ursprünglicher Zeitplan und Meilensteinplanung

Tabelle 1: Im Projektantrag vorgeschlagener Zeitplan zur Verteilung der Arbeiten um die gesetzten Meilensteine (M1-M6) zu erreichen.

Projektjahr	2019				2020				2021					
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4		1
1): Arbeitspaket 1														
Aufgabe 1			M 1											
Aufgabe 2			M 2											
2): Arbeitspaket 2														
Aufgabe 1								M 3						
3): Arbeitspaket 3														
Aufgabe 1									M 4					
Aufgabe 2									M 5					
4): Arbeitspaket 4														
Aufgabe 1													M 6	

3.6 Meilensteine

M1: Ermittlung der relevanten optischen Eigenschaften der entwickelten Regeneratcellulose.

M2: Ermittlung der relevanten optischen Eigenschaften der Spinnenseidenproteine.

M3: Erzeugung von Lichtwellenleitern bestehend aus Cellulose und Spinnenseidenproteinen, sowie der Charakterisierung der optischen Leitungseigenschaften.

M4: Erzeugung von (mono-)dispersen Biopolymernanokugeln bestehend aus Regeneratcellulose.

M5: Anpassung des Prozesses für die Herstellung von (mono-)dispersen Biopolymernanokugeln bestehend aus Spinnenseidenproteinen.

M6: Aufbau und Charakterisierung komplexer Lichtwellenleiterarchitekturen nach dem biologischen Vorbild des Gießkannenschwamms *Euplectella aspergillum*.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Arbeitspaket 1:

Im Folgenden werden die Ergebnisse und die zugehörigen Diskussionen des ersten Arbeitspakets dargestellt.

4.1.1 Aufgabe 1: Bestimmung der optischen Eigenschaften der Regeneratcellulose

4.1.1.1 Herstellung einer Cellulose-Stammlösung

Für die Bestimmung der relevanten optischen Eigenschaften der Cellulose, muss die verwendete mikrokristalline Cellulose (MCC) in Lösung gebracht werden. Dafür wird die Cellulose in einem DMAc/LiCl-Lösungsmittelsystem gelöst. Der Auflösungsprozess wurde in Anlehnung an Rahn et al. und Weiku et al. durchgeführt.^[5,6] Die Herstellung der Cellulose-Lösungen nach Rahn et al. (1996) ergab jedoch eine stark gefärbte gelbe Flüssigkeit. Für eine optimale Bestimmung der optischen Eigenschaften, als auch der nachfolgenden Herstellung von Lichtwellenleiterstrukturen ist es notwendig, eine möglichst farblose Lösung herzustellen, da ansonsten die daraus regenerierten Materialien ebenfalls farbig erscheinen. Dieses Phänomen entsteht durch den Abbau und die Verfärbung von Celluloseprodukten. Die Vergilbung wird allgemein durch drei Stressfaktoren verursacht. Sie kann durch photochemische (Strahlung), chemische (oxidativ und/oder hydrolytische) oder thermische Belastung (hohe Temperatur) verursacht werden.

Nach Rahn et al. (1996) wird die Cellulose für 24 h bei 100 °C getrocknet und anschließend für 2 h bei 130 °C in DMAc gerührt, um restliche Spuren von Wasser zu entfernen und die Cellulose entsprechend zu aktivieren. Dies führt zum molekularen Abbau und der Vergilbung der Cellulose bzw. zur Gelbfärbung der daraus hergestellten Lösung.

Um dem entgegenzuwirken, wurden 5,0 g MCC (30,9 mmol) gefriergetrocknet und dann in 100 mL DMAc in einem braunen Kolben suspendiert. Der Ansatz wurde mit einem Calciumchlorid-Trockenrohr versehen und als Vorbehandlung für 72 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zusätzlich wurden 9,81 g LiCl (231,4 mmol) in einem Trockenschrank bei 105 °C getrocknet. Die vorbehandelte Cellulose-Suspension wurde langsam auf 90 °C erhitzt und 1 h lang gerührt. Das getrocknete LiCl wurde fein zermahlen und langsam zum Ansatz gegeben. Nach 15 Minuten wurde der Ansatz gezielt um 0,53 °C/min auf Raumtemperatur abgekühlt. Der abgekühlte Ansatz wurde für weitere 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Man erhält eine farblose bis leicht blass-gelbe Lösung, die anschließend zur Folienherstellung, dem Nassspinnen, oder für die Herstellung von Nanopartikeln verwendet werden kann.

Die genannte Vorbehandlung bei Raumtemperatur führte zur Ausbildung von Nanoporen in der mikrokristallinen Cellulose. Die erhöhte Nanoporosität erleichtert die spätere Diffusion von Chlorid-Anionen in Cellulose-Ketten und führt anschließend zur vollständigen Auflösung der Cellulose.^[6]

Diese Art der Voraktivierung der Cellulose ermöglichte es, die maximale Temperatur sowie die benötigte Dauer der Temperaturbehandlung zu reduzieren. Diese angepasste und optimierte

Herangehensweise sorgt für einen geringen thermischen Stress und führt somit zu einer geringeren Verfärbung der daraus resultierenden Lösung.

Beim anschließenden langsamen Abkühlen auf Raumtemperatur werden die intermolekularen Wasserstoffbrücken zwischen den Celluloseketten aufgebrochen und Wasserstoffbindungen mit Chlorid-Anionen entstehen. Die Celluloseketten können nun in der Lösung dispergieren und eine homogene viskose Lösung wird gebildet.^[5,7]

Dieser optimierte Vorgang ermöglichte eine Temperatureinsparung von bis zu 40 °C im Vergleich zur Literatur. Der dadurch reduzierte Energiebedarf erfüllt somit den angestrebten Nachhaltigkeitsaspekt im Projekt. Um die Qualität der hergestellten Cellulose-Lösungen quantifizieren zu können, wurde die Absorbanz über UV/VIS Spektrometrie ermittelt. In Abbildung 1 werden die Absorbanzspektren der Cellulose-Lösung nach Rahn et al. und nach dem optimierten Ansatz miteinander verglichen.

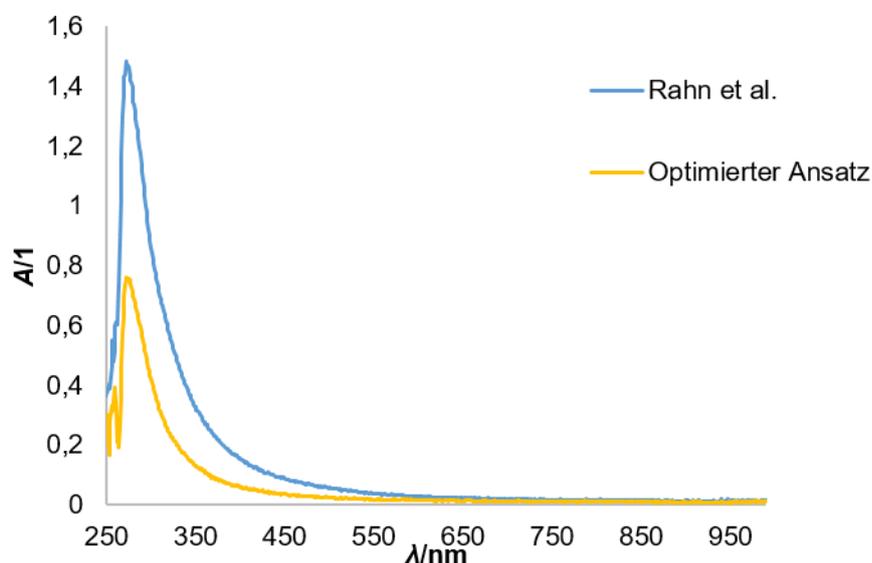


Abbildung 1: Ermittelte Absorbanz der hergestellten Cellulose-Lösung nach Rahn et al. (blau) und nach dem optimierten Ansatz (gelb) im Wellenlängenbereich von 250 nm bis 990 nm.

Beide Lösungen haben ein Absorptionsmaximum bei etwa 275 nm. Danach flachen die Kurven ab und erreichen einen konstanten Wert bei einer höheren Wellenlänge. Die Lösung nach Rahn et al. hat eine maximale Absorbanz von 1,47. Die Kurve erreicht einen konstanten Wert bei etwa 600 nm. Durch die Optimierung des Löseprozesses konnte die Absorbanz um etwa die Hälfte auf 0,75 reduziert werden. Die Halbwertsbreite wurde verringert und ein konstanter Wert wird bei einer Wellenlänge von etwa 500 nm erreicht. Die Optimierung des Lösungsvorgangs entzerrt somit die Absorptionsbande aus dem sichtbaren Bereich des Spektrums, wodurch diese dann farblos erscheint. Demgegenüber weisen die Cellulose-Lösungen nach Rahn et al. Ausläufer der Bande mit einer klaren Absorption im Bereich zwischen 450 nm und 550 nm auf. Dadurch werden die blauen Anteile des sichtbaren Lichts absorbiert, wodurch die Lösung anschließend gelb erscheint.

Da die Cellulose-Lösung die Ausgangssubstanz zur Ausbildung von Fasern, bzw. Nanosphären ist, sollte diese im Idealfall möglichst farblos sein, da die daraus ausgelierten Festkörper ansonsten ebenfalls farbig erscheinen. Dies würde anschließend zur Absorption spezieller

Wellenlängen im sichtbaren Bereich des Spektrums führen. Da die Cellulose in der Lichtwellenleiterstruktur das Kernmaterial bildet, würde dies zu einer Abnahme des transmittierten Lichts und somit zu einer Zunahme der Dämpfung führen. Daher ist es nötig die Ausbildung der Absorptionsbande um 275 nm, die zur gelblichen Verfärbung führt, zu vermeiden.^[8]

4.1.1.2 Bestimmung der optischen Eigenschaften der Regeneratcellulose

Die hergestellte Celluloselösung kann anschließend für die Anfertigung von Folien und Fasern eingesetzt werden. Für die Bestimmung der optischen Eigenschaften werden transparente und möglichst fehlerfreie Folien benötigt. Die Herstellung diverser Folien bei Verwendung unterschiedlicher Koagulationsmedien (Wasser, Ethanol, Isopropanol und Aceton) sowie deren Einfluss auf die Qualität der Cellulosefolien, als auch deren anschließenden Analyse über Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie (FTIR-Spektroskopie) und Röntgendiffraktion (XRD) wurde detailliert untersucht. Hervorzuheben ist hierbei, dass der Regenerationsprozess zu einer Veränderung der Kristallstruktur führt. Dabei wird die Cellulose von der Cellulose I-Modifikation in die Cellulose II-Modifikation überführt. Diese stellt die thermodynamisch stabilere Modifikation dar.

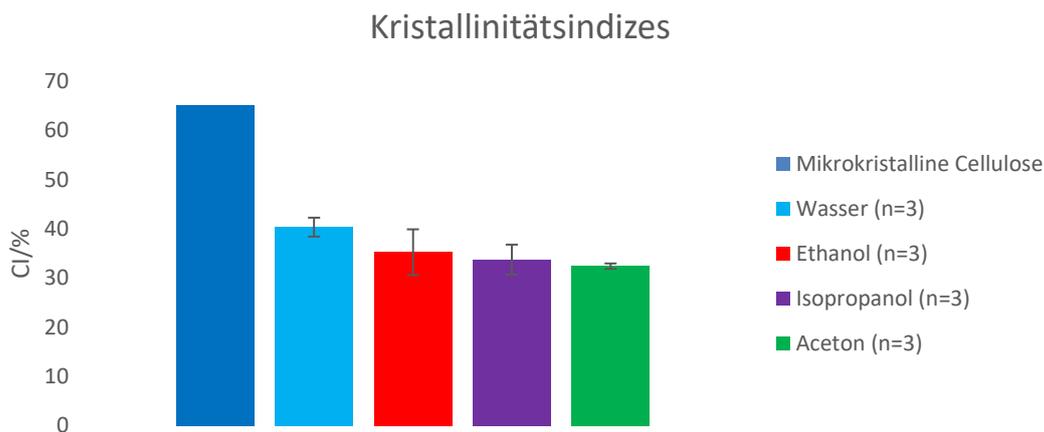


Abbildung 2: Vergleich der Kristallinitätsindizes (CI) der unbehandelten mikrokristallinen Cellulose, sowie der in Wasser, Ethanol, Isopropanol und Aceton hergestellten Regeneratcellulose-Folien.

Durch diesen Umwandlungsprozess nimmt die Kristallinität von etwa 65 % auf 40-30 % ab. Ein erhöhter amorpherer Anteil begünstigt hierbei die Transparenz des Materials. Daraus wird ersichtlich, dass die Regeneration die Entwicklung eines stabileren und transparenteren Materials begünstigt und somit ideal für die Herstellung von Lichtwellenleiterstrukturen ist. Um möglichst defektfreie Folien herstellen zu können, sollte ein unpolares Koagulationsmedium verwendet werden. LiCl besitzt in polaren Flüssigkeiten wie Wasser (63,7 g/100 mL) eine deutlich erhöhte Löslichkeit im Vergleich mit Aceton (4,11 g/100 mL). Durch die schnelle Entfernung des Salzes aus dem entstehenden feuchten Gel kommt es zur Ausbildung von unregelmäßigen Strukturen.^[9]

Für die Bestimmung der optischen Eigenschaften wurden 10 mL der hergestellten Lösung bei 1073 g Beschleunigung für 10 Minuten zentrifugiert, um Lufteinschlüsse zu vermeiden. Die

Lösung wurde vorsichtig auf eine Glasplatte gegossen und durch den Einsatz eines Filmapplikators auf eine Dicke von 1,2 mm verstrichen. Die Platte wurde anschließend für 1 h in einem EtOH-Koagulationsbad platziert. Der regenerierte Cellulosefilm wurde fünfmal mit destilliertem Wasser gewaschen, um Lösungsmittelreste zu entfernen. Die hergestellte Folie wurde mit Klebeband auf einer PMMA-Platte fixiert und über Nacht bei 40 °C im Trockenschrank getrocknet. Die hochtransparenten und farblosen Regeneratcellulose (RC)-Filme besitzen durchschnittliche Dicken von $54 \pm 5 \mu\text{m}$.

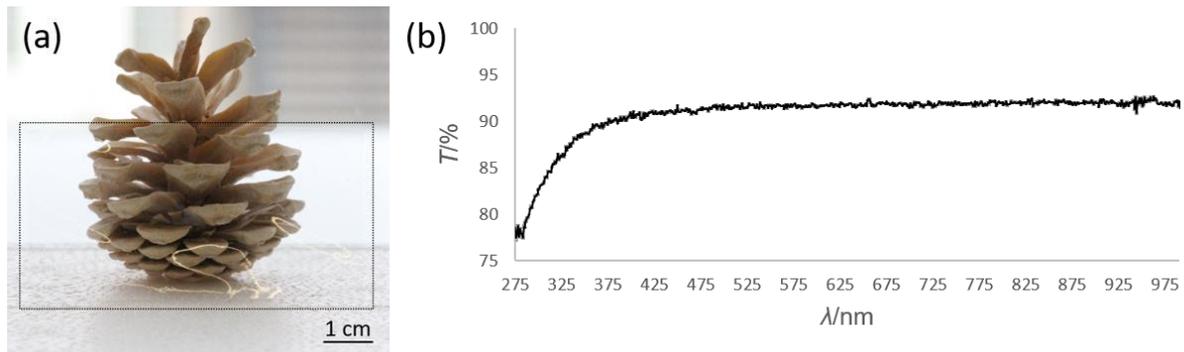


Abbildung 3: (a) Darstellung einer hochtransparenten Folie aus RC vor einem Tannenzapfen. Die schillernden Linien sind Lichtreflexe. Das gepunktete Quadrat verdeutlicht die Dimensionen der Folie. Schichtdicke: $54 \mu\text{m}$. (b) Transmissionsverlauf der RC-Folie in Abhängigkeit von der Wellenlänge. Wiedergegeben mit Genehmigung.^[8] Urheberrecht 2021, American Chemical Society.

Die Filme weisen eine Transparenz von 91-92 % im sichtbaren Bereich des Spektrums auf. Die erhaltenen Transmissionsverläufe wurden anschließend verwendet, um den Brechungsindexverlauf mittels der Transfer-Matrix-Methode (TMM) zu bestimmen.

Mit der TMM kann die Lichtausbreitung an planaren Filmen/Folien einschließlich der Auswirkung mehrfacher interner Reflexionen und Interferenzen simuliert werden. Daraus lassen sich eine Vielzahl an optischen Informationen (Transmission, Absorption, Reflexion, Brechungsindex, Abbe-Zahl) gewinnen. Dafür benötigt man nur eine Lösung der Polymers sowie eine daraus hergestellte transparente Folie.

Die Anwendbarkeit der verwendeten Methode wurde anhand bereits veröffentlichter und bekannter Abbe-Zahlen überprüft. Dabei konnten sowohl Polymilchsäure (PLA), PS als auch RC eingesetzt werden. Der Brechungsindex-Verlauf kann über die Sellmeier-Gleichung berechnet werden (siehe Formel 1).

$$n = \sqrt{A + \frac{B \cdot \lambda}{\lambda - C}} \quad (1)$$

Hierbei stellt n den Brechungsindex in Abhängigkeit von der Wellenlänge λ und A , B und C stellen Sellmeier-Koeffizienten dar. Die Abbe-Zahl kann anschließend aus den ermittelten Brechungsindices n_F , n_D , n_C der Wellenlängen von 486 nm, 589 nm und 656 nm berechnet werden (siehe Formel 2).

$$v_D = \frac{n_D - 1}{n_F - n_C} \quad (2)$$

Tabelle 2: Brechungsindices n_F , n_D und n_C , ermittelte Abbe-Zahl mit zugehöriger Gauß'scher Fehlerfortpflanzung sowie aus der Literatur entnommene Abbe-Zahlen der Proben PLA, PS und RC.

Probe	n_F	n_D	n_C	Abbe-Zahl	Gauß'sche Fehlerfortpflanzung	Abbe-Zahl (Lit.)
PLA	1,472	1,466	1,463	50,86	3,55	49,1 ^[10]
PS	1,597	1,585	1,579	32,34	7,10	31,0 ^[11]
RC	1,545	1,539	1,536	55,65	3,34	54,1 ^[12]

Die berechneten Abbe-Zahlen und damit auch die entsprechenden Dispersionen der Brechungsindex-Verläufe besitzen jeweils einen ähnlichen Wert entsprechend der Literatur. Die folgenden Brechungsindex-Verläufe besitzen zusätzlich eine geringe Standardabweichung.

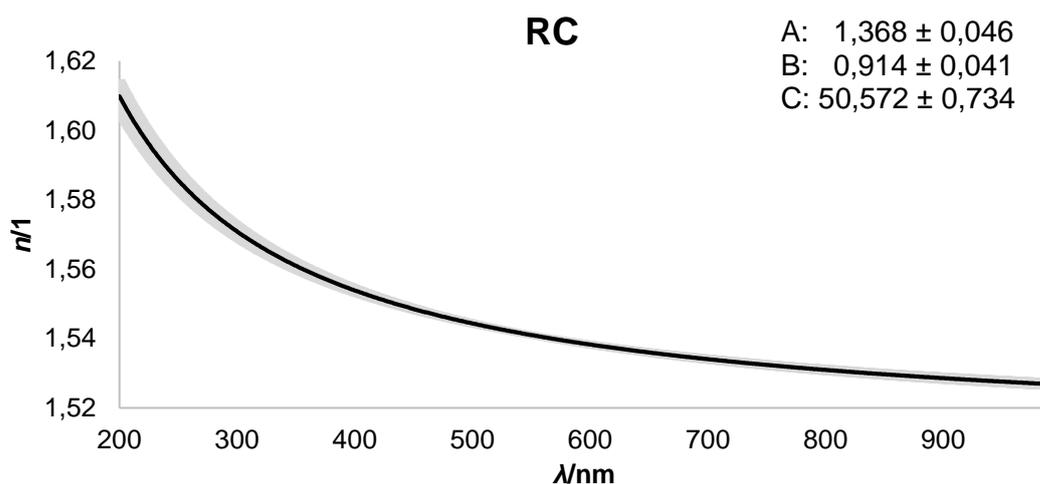


Abbildung 4: Brechungsindex-Verlauf mit Standardabweichung von RC mit den zugehörigen Sellmeier-Koeffizienten A, B und C.

Diese Methode kann entsprechend auch auf weitere Biopolymere übertragen werden. Daher können neben der Regeneratcellulose auch weitere Cellulosederivate wie Cellulosediacetat (CDA), Celluloseacetpropionat (CAP) oder Celluloseacetatbutyrat (CAB) untersucht werden. Diese Derivate sind für ihre äußerst transparenten und robusten Materialeigenschaften sowie geringe Materialkosten bekannt. Zusätzlich besitzen diese Polymere einen geringeren Brechungsindex als die Regeneratcellulose. Daher wäre es möglich diese als Mantelstruktur zu verwenden, um Lichtwellenleiterstrukturen rein basierend auf Cellulose zu entwickeln.

4.1.2 Aufgabe 2: Bestimmung der optischen Eigenschaften der Spinnenseidenproteine

4.1.2.1 Herstellung von Spinnenseidenprotein-Folien

Das Lösen der Seide, die Herstellung von Seidenproteinfolien sowie die Nachbehandlung wurden in Anlehnung an Aigner und Scheibel (2019) durchgeführt.^[13] Dabei wurden die rekombinant hergestellten Spinnenseidenproteine eADF4(C16) der Firma AMSilk GmbH verwendet.

Die Seidenproteinfolien sind nach der Herstellung wasserlöslich und müssen daher zusätzlich nachbehandelt werden. Da die Art und Weise der Nachbehandlung einen großen Einfluss auf die optischen Eigenschaften der Seide hat, wurde die Nachbehandlung mit einem unterschiedlichen Massenanteil (wt%) an Ethanol eingehend untersucht (siehe Abbildung 5).

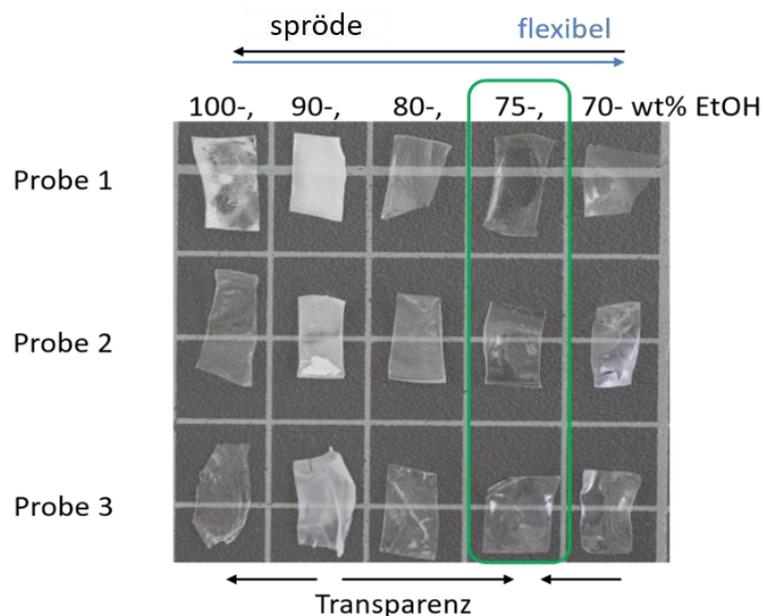


Abbildung 5: eADF4(C16) Seidenproteinfolien nach der Behandlung mit 100-, 90-, 80-, 75- und 70- wt% Ethanol.

Für die Untersuchungen der Nachbehandlung wurden größere unbehandelte Seidenfolien in Teilsegmente separiert. Daraus ergaben sich drei Proben mit je fünf Teilsegmenten. Diese wurden anschließend für eine Minute in einer Lösung mit einem Massenanteil an Ethanol von 100 %, 90 %, 80 %, 75 % und 70 % nachbehandelt. Da die Seidenfilme jedoch eine hohe Empfindlichkeit sowohl vor als auch nach der Ethanol-Behandlung besitzen, kommt es zu Verformungen und Defekten. Aufgrund der geringen Größe konnten keine Fixierungen durchgeführt werden. Durch die entstandenen Defekte, wie Wölbungen, waren die Proben für gezielte optische Analysen mittels UV/VIS Spektroskopie nicht mehr geeignet. Die Beurteilung der Qualität fand somit nur nach Augenmaß und persönlichem Empfinden statt. Die Bewertung der Transparenz ist aus Abbildung 5 zu erkennen. Bei einer Nachbehandlung mit einem Gewichtsanteil (Gew%) von 90 % an Ethanol entstanden jeweils fast vollständig weiße bis stark opake Folien. Wird reines Ethanol eingesetzt, ist die Folie oft wiederum transparent, bis manchmal weißlich und weiß fleckig. Reduziert man den Anteil an Ethanol auf 80 Gew% wird die Folie transparent, bis leicht milchig. Eine Behandlung mit einem Massenanteil an Ethanol

von 75 % liefert die besten Ergebnisse. Eine zusätzliche Reduzierung führt wiederum dazu, dass die Folien leicht milchig werden. Reduziert man den Ethanol Anteil zusätzlich, löst sich die Folie aufgrund des erhöhten Wasseranteils auf. Neben der optischen Beurteilung wurde über die Handhabung auch die Flexibilität begutachtet. Dabei hat sich gezeigt, dass die Seidenfolien flexibler werden, je geringer der Ethanol-Anteil ist. Bei 90 % bis 100 % an Ethanol sind die Folien sehr spröde und für technische Anwendungen mit Belastung nicht geeignet. Bei geringerem Anteil werden die Folien flexibel, bis leicht elastisch. Insgesamt waren die Folien, welche für eine Minute in 75 wt% Ethanol nachbehandelt wurden, für die Folienherstellung am geeignetsten. Anhand der Informationen wurde auch Seide der Seidenspinnerraupe (*Bombyx mori*) entsprechend nachbehandelt und analysiert.

Anschließend konnten die Folien über die FTIR-Spektroskopie untersucht werden, um die Sekundärstrukturanteile zu bestimmen. Über die Amid I-Bande konnten somit die Sekundärstrukturanteile von α -Helix, β -Faltblatt, β -Schleife, random coil und „anderen“ Sekundärstrukturen zugeordnet werden. Durch die Nachbehandlung mit Ethanol steigt der β -Faltblatt Anteil von 27 % auf etwa 40 % an. Der α -Helix Anteil sinkt von etwa 13 % auf 7 %. Der random coil Anteil sinkt von 28 % auf etwa 15 %. Der β -Schleifen Anteil sinkt von 21 % auf 13-19 %. Weitere andere Sekundärstrukturanteile steigen von 11 % auf 18-23 %. Die Sekundärstrukturanteile der einzelnen Proben bei unterschiedlicher Nachbehandlung unterscheiden sich insgesamt nur geringfügig. Allgemein sinkt der α -Helix Anteil und es werden eher β -Faltblatt Anteile ausgebildet. Dies führt dazu, dass die Seide eine kristallinere und vor allem wasserunlösliche Struktur einnimmt. Daraus lässt sich erschließen, dass die in Abbildung 5 zu sehenden optischen Unterschiede, weniger durch die Sekundärstrukturen, sondern vermutlich eher über die Intensität und eventuell die Dauer der Nachbehandlung verursacht werden.

Bombyx mori Seide besitzt in Vergleich zur rekombinant hergestellten Spinnenseide eine andere Primärstruktur und somit auch andere Materialeigenschaften. Dies führt dazu, dass beide Substanzen nur bedingt miteinander vergleichbar sind. Aufgrund der höheren Verfügbarkeit wurde diese Seidenart dennoch untersucht. Durch die Nachbehandlung ergab sich ein ähnlicher Trend. Nur der β -Faltblatt Anteil nahm durch die Nachbehandlung leicht ab.

4.1.2.2 Bestimmung der optischen Eigenschaften der Seidenfolien

Anhand dieser Informationen wurden große Folien aus eADF4(C16) hergestellt, um diese genauer optisch zu untersuchen (siehe Abbildung 6).

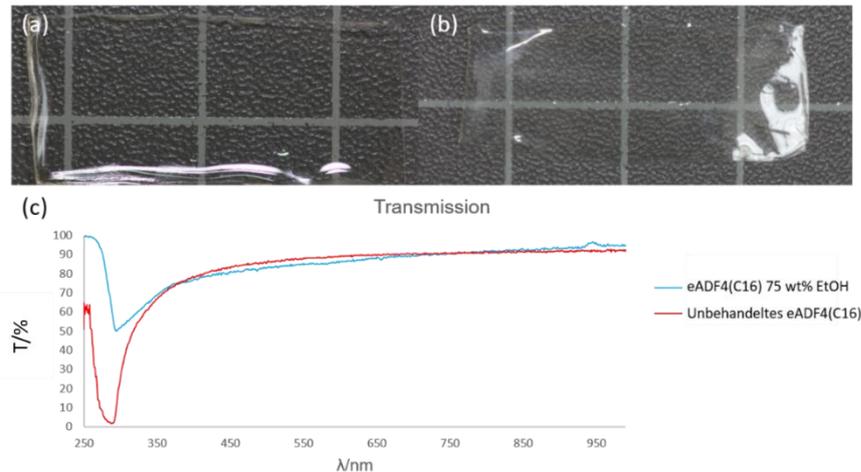


Abbildung 6: Aufnahmen der (a) unbehandelten und (b) mit 75 wt% Ethanol behandelten eADF4(C16) Seidenfolie sowie (c) die daraus ermittelten Transmissionsspektren.

Die in (a) unbehandelte Seidenfolie zeigt eine mit bloßem Auge erkennbare hohe Transparenz. Durch die Nachbehandlung mit 75 Gew% Ethanol (b) wurde die Folie teilweise leicht opak, blieb aber größtenteils transparent. Die erhaltenen Folien wurden jeweils am UV/VIS Spektrometer im Wellenlängenbereich von 250 nm bis 990 nm untersucht. In (c) erkennt man, dass der jeweilige Verlauf sehr ähnlich ist. Der Unterschied zwischen den Folien liegt überwiegend im UV-Bereich. Dort besitzt die unbehandelte Seidenfolie eine erhöhte Absorption. Diese nimmt durch die Ethanol-Behandlung deutlich ab. Die beobachtete Veränderung der Sekundärstrukturanteile hat somit einen Einfluss auf die Absorption im UV-Bereich.

Anschließend wurden jeweils unbehandelte und mit 75 Gew% Ethanol nachbehandelte Folien aus eADF4(C16) und *Bombyx mori* Seidenfibroin über die TMM analysiert. Daraus ergaben sich die folgenden Ergebnisse (siehe Tabelle 3 und Abbildung 7 und 8).

Tabelle 3: Brechungsindizes n_F , n_D und n_C , ermittelte Abbe-Zahlen mit zugehöriger Gauß'scher Fehlerfortpflanzung sowie aus der Literatur entnommene Abbe-Zahl der unbehandelten und nachbehandelten Seidenproben eADF4(C16) und *Bombyx mori*.

Probe	n_F	n_D	n_C	Abbe-Zahl	Gauß'sche Fehlerfortpflanzung	Abbe-Zahl (Lit.)
eADF4(C16)	1,484	1,475	1,470	34,25	1,06	-
eADF4(C16) nachbehandelt	1,535	1,527	1,524	47,76	0,84	-
<i>Bombyx mori</i>	1,496	1,487	1,483	37,82	0,21	36,01 ^[14]
<i>Bombyx mori</i> nachbehandelt	1,512	1,502	1,497	34,46	1,80	-

Aus der Tabelle ist zu erkennen, dass der unbehandelte eADF4(C16) Film einen Abbe-Wert von 34,25 besitzt. Durch die Nachbehandlung mit 75 Gew% Ethanol für eine Minute erhöht sich die Abbe-Zahl auf einen Wert von 47,76. Dies führt dazu, dass sich der Brechungsindex-Verlauf stärker abflacht. Für dieses Protein gibt es bisher keinen Literaturwert. Die unbehandelte *Bombyx mori* Seide besitzt einen Abbe-Wert von 37,82. Dieser Wert stimmt gut mit der

Literatur überein. Jedoch besitzt diese Seide einen geringeren Brechungsindex-Verlauf als die in der betrachteten Literatur. Dies kann dadurch begründet werden, dass Perotto et al. *Bombyx mori* Seide über eine LiBr-Lösung verarbeitet hatten.^[14] Dadurch haben sich andere Sekundärstrukturanteile gebildet. Daher sollte hierbei auch der Abbe-Wert aus der Literatur eher kritisch betrachtet werden. Im Gegensatz zu den eADF4(C16) Proteinen kam es bei *Bombyx mori* durch die Nachbehandlung zu einer Herabsetzung der Abbe-Zahl auf 34,46. Eine Literaturangabe zur exakten Nachbehandlungsart gibt es zum jetzigen Zeitpunkt nicht.

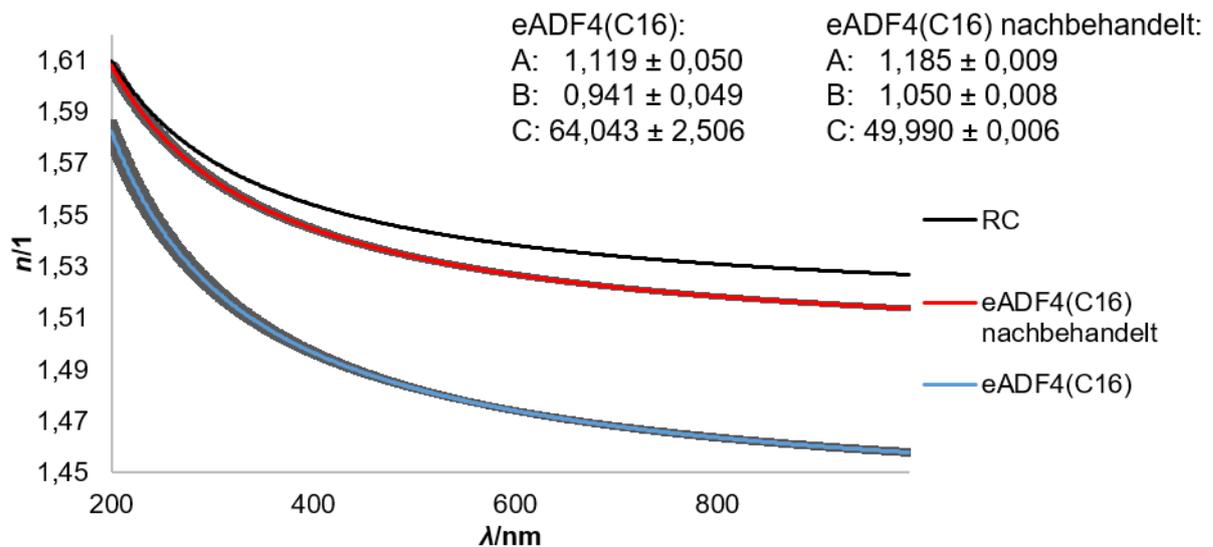


Abbildung 7: Brechungsindex-Verlauf mit Standardabweichung der unbehandelten und nachbehandelten eADF4(C16) Seidenfolien mit den zugehörigen Sellmeier-Koeffizienten *A*, *B* und *C* sowie der mittlere Verlauf der RC.

In Abbildung 7 sind die Brechungsindex-Verläufe der eADF4(C16) Folien dargestellt. Zusätzlich als Vergleich ist der mittlere Verlauf der Regeneratcellulose mit abgebildet. Man erkennt, dass die Nachbehandlung zu einem Anstieg des Verlaufs führt. Die Nachbehandlung mit Ethanol führt wie beschrieben zu einer Reduzierung der α -Helix- und Erhöhung der β -Faltblattstruktur. Dadurch bildet sich ein kompakteres und dichteres Material, was zu Erhöhung des Brechungsindex-Verlaufs führt. Im sichtbaren Bereich des Spektrums befinden sich sowohl die unbehandelte als auch nachbehandelte rekombinant hergestellte Seidenfilme unterhalb der Regeneratcellulose. Dadurch ist das physikalische Kriterium der Totalreflexion beim Aufbau einer Kern-Mantel-Struktur beim Lichtwellenleiter erfüllt. Wodurch beide Seidenstrukturen, als Mantelmaterial dienen können. Aus technischen Gründen sollte jedoch nur die nachbehandelte und wasserunlösliche eADF4(C16) Seide eingesetzt werden.

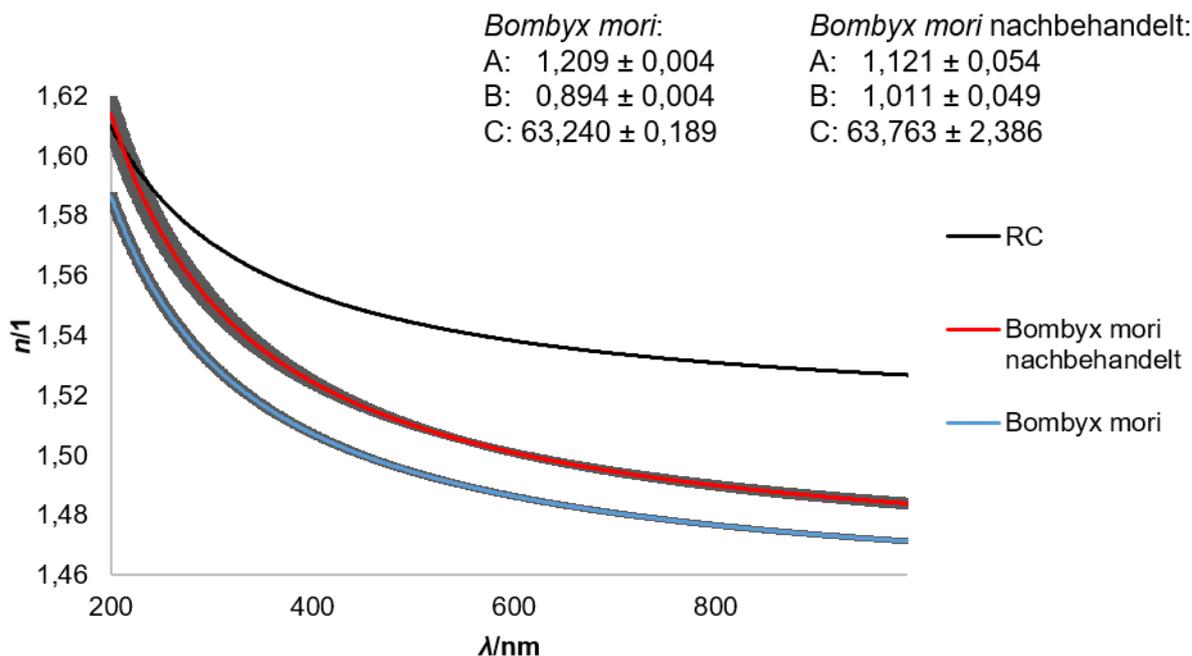


Abbildung 8: Brechungsindex-Verlauf mit Standardabweichung der unbehandelten und nachbehandelten *Bombyx mori* Seidenfolien mit den zugehörigen Sellmeier-Koeffizienten *A*, *B* und *C* sowie der mittlere Verlauf der RC.

In Abbildung 8 ist der Brechungsindex-Verlauf der unbehandelten und nachbehandelten *Bombyx mori* Seide dargestellt. Zusätzlich wurde der mittlere Verlauf der Regeneratcellulose beigefügt. Der Trend der Erhöhung des Verlaufs durch die Ethanol Nachbehandlung ist auch hier zu erkennen. Im Vergleich zur eADF4(C16) Seide ist der Anstieg deutlich geringer. Die *Bombyx mori* Seide liegt ebenfalls unterhalb des Verlaufs der Regeneratcellulose, wodurch diese ebenfalls als Mantelmaterial eingesetzt werden könnte.

Ziel des Projekts war es jedoch nicht die eADF4(C16) Seide als Mantelmaterial einzusetzen. Im Kooperationsprojekt BionOptik I soll daher diese Seide mit einer Cellulosebindungsdomäne (CBD) modifiziert werden, um somit eADF4(C16)_CBD Proteine zu entwickeln.

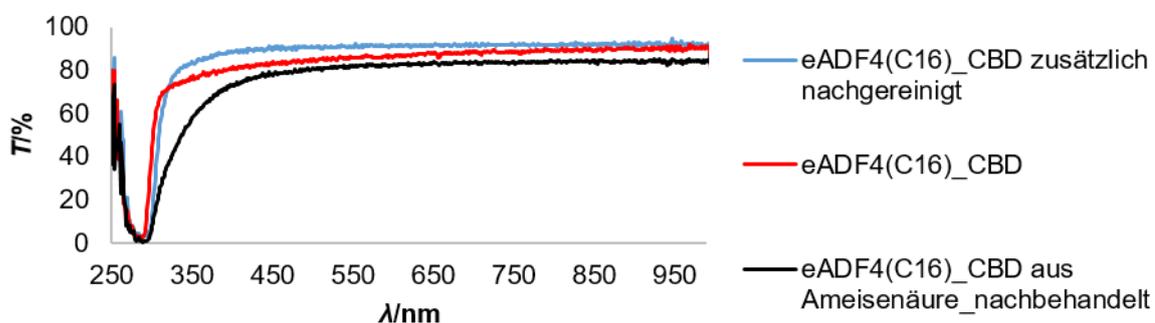


Abbildung 9: Transmissionsspektrum der eADF4(C16)_CBD Proteinfilme gelöst in Ameisensäure und mit Methanol Dampf nachbehandelt (schwarz), sowie gelöst in 1,1,1,3,3,3-Hexafluoroisopropanol (HFIP) ohne Nachreinigung (rot) und mit zusätzlicher Reinigung (blau).

In Abbildung 9 sind die Transmissionsspektren der eADF4(C16)_CBD Proteinfilme zu erkennen. Werden die Proteine in Ameisensäure gelöst und die daraus hergestellten Filme mit Methanol Dampf nachbehandelt, entsteht eine eher gelbliche Folie. Dies ist auch am Transmissionspektrum zu erkennen. Die Folie besitzt, wie die anderen, eine starke Absorption im UV-Bereich. Die Bande erstreckt sich bis in den sichtbaren Bereich des Spektrums, wodurch sie die blauen Anteile des Lichts absorbiert und daher gelblich erscheint. Insgesamt wird eine Transmission von etwa 84 % erreicht. Durch die Nachbehandlung mit Methanoldampf nahm die Absorptionsbande im UV-Bereich nicht ab. Die gelbliche Verfärbung sowie die geringe Transmission zeigen, dass Ameisensäure als Lösungsmittel nicht geeignet ist. Werden die Folien aus 1,1,1,3,3,3-Hexafluoroisopropanol (HFIP) hergestellt, ergeben sich Absorptionsbande mit einer geringeren Halbwertsbreite. Dies begünstigt die Herstellung von farblosen und klaren Folien. Ohne eine zusätzliche Nachreinigung flacht der Verlauf früher ab, wodurch nur eine maximale Transmission von etwa 90 % erreicht wird. Durch eine zusätzliche Reinigung, die wiederum Oxidationsreste entfernt, kann eine Transmission von 90 % schon ab einer Wellenlänge von 450 nm erreicht werden. Bei höheren Wellenlängen nähert sich die Transmission einem Wert von 92 % an. Daraus ist zu erkennen, dass die Nachreinigung eine hohe Bedeutung hat, um die bestmöglichen optischen Eigenschaften zu erhalten. Aus den Ergebnissen der eADF4(C16) Proteine sollte auch hier eine Ethanol Nachbehandlung zu einer Verringerung der Absorption im UV-Bereich führen, wodurch schon eher höhere Transmissionswerte erreicht werden sollten. Im Kooperationsprojekt BionOptik I konnte jedoch keine aktive Bindung der Seidenproteine, welche aus HFIP bzw. Ameisensäure regeneriert wurden, an Cellulose festgestellt werden. Diese Lösungsmittel begünstigen keine funktionierende Faltung der Cellulosebindungsdomäne. Aus wässrigen Lösungen konnten Strukturen generiert werden, die aktiv an Cellulose binden. Hierbei konnten aber keine Filme mit einer ausreichenden Dicke erzeugt werden, um die optischen Eigenschaften entsprechend analysieren zu können. Es ist jedoch anzunehmen, dass der Brechungsindexverlauf ähnlich wie bei den aus HFIP regenerierten Folien ist.

4.2 Arbeitspaket 2:

Im Folgenden werden die Ergebnisse und die zugehörigen Diskussionen des zweiten Arbeitspakets dargestellt.

4.2.1 Aufgabe 1: Herstellung von Lichtleitern aus den Biopolymere Cellulose und Spinnenseidenproteinen

Für die Herstellung der Kernfaserstruktur wurde die farblose Cellulose-Lösung in eine Spritze blasenfrei aufgezogen und über eine Spritzenpumpe in ein Koagulationsbecken unter konstanter Flussrate geleitet. Die regenerierte Faser wurde anschließend aufgewickelt und mehrfach gewaschen, um Lösungsmittelrückstände zu entfernen. Die gequollenen Fasern wurden

nachfolgend unter Zugspannung getrocknet und können anschließend für die Lichtwellenleitung genutzt werden. Das verwendete Nassspinnverfahren wurde im gesamten Projektzeitraum kontinuierlich verbessert.

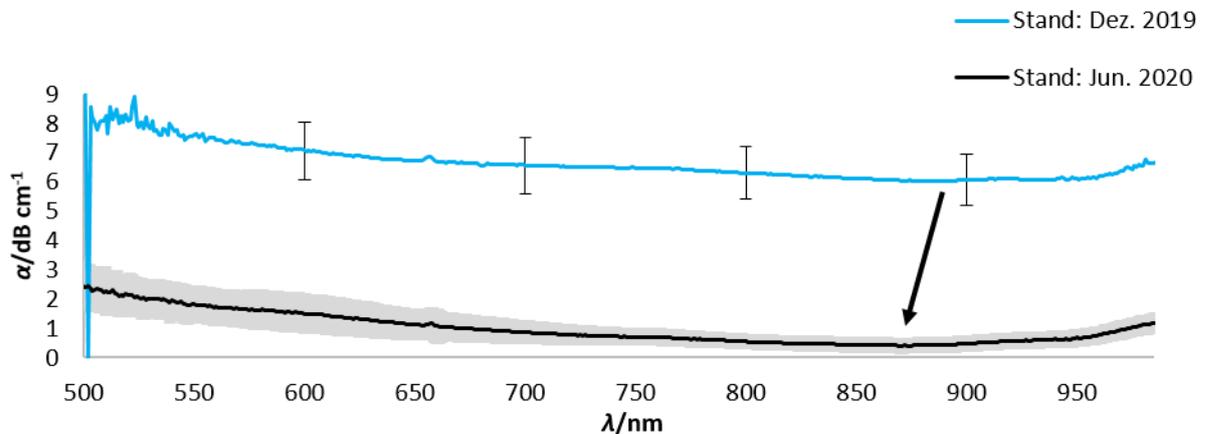


Abbildung 10: Dämpfungsspektrum der reinen Regeneratcellulose. Stand aus dem Jahr 2019 (blau) und aktueller Stand (schwarz).

Die Optimierung der Herstellungsbedingungen der Regeneratcellulose-Filamente führte zu einer Abnahme des Dämpfungsverlaufs (siehe Abbildung 10). Dadurch konnte das Dämpfungsminimum innerhalb des Projektzeitraums von $6,0 \text{ dB cm}^{-1}$ auf $0,4 \text{ dB cm}^{-1}$ reduziert werden. Dabei kam es zu einer Verschiebung des Minimums von 893 nm auf 871 nm (schwarzer Pfeil). Die Standardabweichung einer Charge konnte durch die Optimierung ebenfalls reduziert werden. Eine einheitlichere Kernstruktur führt daher zu einer verbesserten Lichtwellenleitung. Dies zeigt, dass Cellulosefasern und somit auch die Lichtleitung ein hohes Verbesserungspotential besitzen. Jedoch ist hervorzuheben, dass die Grunddämpfung der Fasern stark chargenabhängig ist. Selbst bei exakten Durchführungen kann es zu Abweichungen zwischen einzelnen Chargen kommen. Dies ist vermutlich auf Defekte innerhalb der Faser zurückzuführen. Eventuell kann dies an dem stets leicht abweichenden Versuchsaufbau liegen. Weitere Untersuchungen haben gezeigt, dass die Qualität der Cellulose-Lösung einen Einfluss auf den Verlauf nimmt. Wird eine gelbliche Cellulose-Lösung eingesetzt, kommt es zu einer Erhöhung der Dämpfung bei 500 nm . Aufgrund des erhöhten Anteils an gebildeten Chromophoren, welche bei niedrigen Wellenlängen Strahlung absorbieren, steht dieser Teil der Strahlung der Lichtwellenleitung nicht mehr uneingeschränkt zur Verfügung, was somit zur erhöhten Dämpfung führt. Eine farblose Cellulose-Lösung führt daher zu einem geringen Dämpfungsstartwert.

Die Vorgehensweise der Ummantelung der Kernstruktur wurde zunächst mit Cellulosederivaten getestet. Eine vorherige Trocknung der Rohfilamente zeigte dabei eine verbesserte Dämpfung der Kern-Mantel-Struktur. Zur Trocknung der Cellulose-Kernfilamente standen dabei zwei Methoden zur Verfügung. Die Filamente können einerseits in einem Trockenschrank oder andererseits in einem Exsikkator getrocknet werden. Bei der Trocknung über einen Trockenschrank kommt es neben einer Erhöhung der Dämpfung zusätzlich zu einer Reduzierung des Wellenlängenbereichs der transmittierten Strahlung (siehe Abbildung 11).

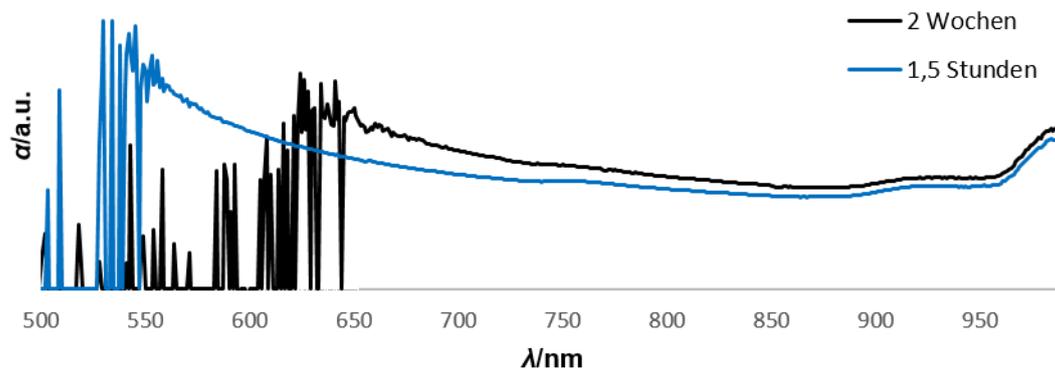


Abbildung 11: Dämpfungsspektrum in beliebigen Einheiten (a.u.) der Regeneratcellulose nach 1,5 Stunden und 2 Wochen langer Trocknung im Trockenschrank bei 105 °C.

Vergleicht man Abbildung 10 mit Abbildung 11 erkennt man, dass nach einer 1,5 h langen Trocknung im Trockenschrank bei 105 °C der Wellenlängenbereich zwischen 500 nm und 550 nm nicht mehr transmittiert wird. Wird die Faser für 2 Wochen im Trockenschrank getrocknet, wird die Strahlung erst ab der Wellenlänge von etwa 650 nm übertragen. Zusätzlich kommt es zu einer grundsätzlichen Erhöhung der Dämpfung. Dies ist ebenfalls durch die Vergilbung erklärbar. Bei Temperaturen oberhalb von 100 °C kommt es zur Degradation und Verfärbung der Cellulose. Über die Dauer werden immer größere Mengen an Chromophoren ausgebildet. Diese absorbieren Strahlung im UV-Bereich. Mit steigender Konzentration nimmt die Halbwertsbreite der Absorptionsbande zu, wodurch immer größere Wellenlängen des sichtbaren Lichts absorbiert werden und nicht mehr für die Wellenleitung zur Verfügung stehen. Dies begrenzt das Verwendungspotential Cellulose-basierter Lichtwellenleiter auf technische Anwendungen, wo es nicht zu einer starken Temperaturentwicklung kommt. Hierbei wäre ein Dauer-versuch über mehrere Monate interessant, um zu erkennen, bis wie weit die Vergilbung einen Einfluss auf die Lichtwellenleitung hat. Die zusätzliche Trocknung über einen Exsikkator beeinflusst die Wellenleitung positiv und stellt somit eine optimale Trocknungsmethode dar.

Anhand dieser Ergebnisse wurde der Aufbau von Kern-Mantel-Strukturen an den Cellulose-derivaten CDA, CAP und CAB getestet. Dafür wurden im Exsikkator getrocknete Fasersegmente mit einer Länge von 11 und 15 cm in die jeweiligen Polymerlösungen (CDA 12,5 Gew.-%, CAB und CAP 25 Gew.-%) eingetaucht, langsam herausgezogen und bei Raumtemperatur getrocknet. Für die Beschreibung der Faserstruktur wurden Aufnahmen mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) durchgeführt. Die erhaltenen Fasern besitzen einen Kerndurchmesser von $315 \mu\text{m} \pm 6,6 \mu\text{m}$ mit einer jeweiligen Manteldicke von $3,7 \mu\text{m} \pm 0,8 \mu\text{m}$, $3,7 \mu\text{m} \pm 0,5 \mu\text{m}$ und $3,6 \mu\text{m} \pm 0,8 \mu\text{m}$ für CDA, CAB und CAP Ummantelungen (siehe Abbildung 12). Die Cellulose-basierten Fasern weisen nach ihrer entsprechenden Präparation eine glatte und kreisrunde Querschnittsfläche auf. Hierbei erkennt man den Cellulosekern und die dünne und gleichmäßige Mantelstruktur bestehend aus dem jeweiligen Cellulosederivat.^[8]

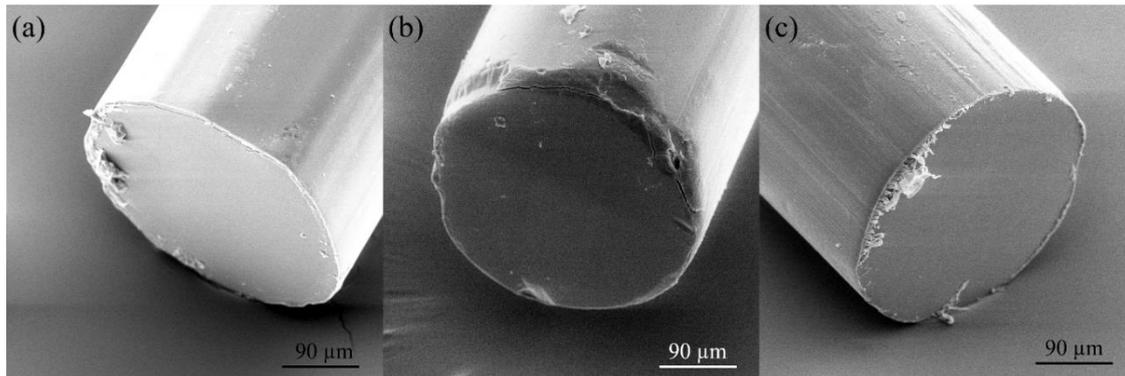


Abbildung 12: REM-Aufnahmen der polierten Faserenden der hergestellten BioPOFs. Diese bestehen aus RC als Kernmaterial und (a) CDA, (b) CAP und (c) CAB als Mantelmaterial. Wiedergegeben mit Genehmigung.^[8] Urheberrecht 2021, American Chemical Society.

In den REM-Aufnahmen ist keine aktive Delaminierung zwischen Kern und Mantel zu erkennen. Mögliche Defekte sind auf die entsprechende Probenpräparation im Schleifprozess der Faserenden zurückzuführen.^[8]

Diese rein auf Cellulose basierten optischen Fasern besitzen gute Lichtleiteigenschaften (siehe Abbildung 13 und 14). Zusätzlich sind die Fasern äußerst flexibel und biegsam (siehe Abbildung 15).^[8]

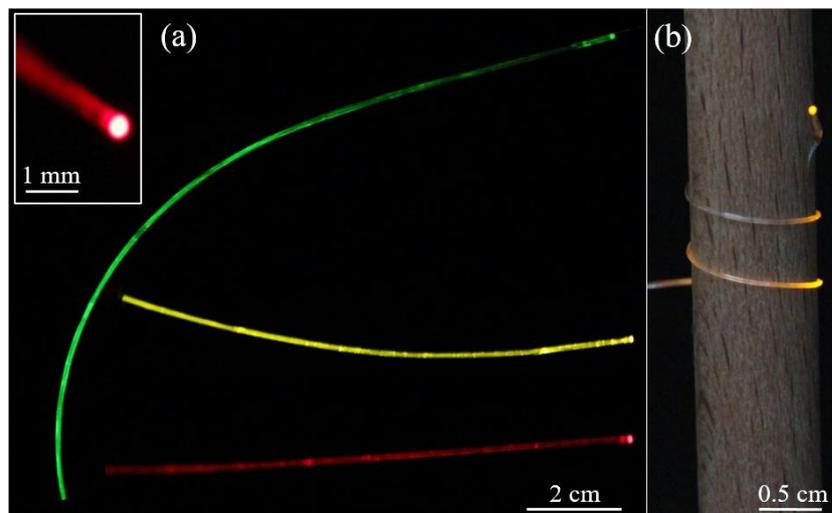


Abbildung 13: Aufnahmen von optischen Fasern auf Cellulose-basis bestehend aus RC als Kernmaterial und CDA, CAP oder CAB als Mantelmaterial. In (a) ist eine RC-CDA-Faser bei einer Wellenlänge von 538 nm (grün), eine RC-CAP-Faser bei einer Wellenlänge von 570 nm (gelb) und eine lineare RC-CAB-Faser bei einer Wellenlänge von 670 nm (rot) dargestellt. Der Rahmen zeigt einen beleuchteten Querschnitt einer RC-CAB-Faser. In (b) ist eine gebogene RC-CDA-Faser zu erkennen. Diese ist um einen Holzzyylinder mit einem Radius von 5 mm gewickelt und wird mit einer Wellenlänge von 580 nm durchleuchtet. Wiedergegeben mit Genehmigung.^[8] Urheberrecht 2021, American Chemical Society.

In Abbildung 13 sind Cellulose-basierte optische Fasern mit unterschiedlicher Ummantelung zu erkennen. Diese hergestellten Fasern können Licht unterschiedlicher Wellenlängen leiten. Sie sind flexibel und können leicht gebogen werden. In 13 (b) ist zu erkennen, wie eine RC-CDA Faser um einen Holzzyylinder mit einem Radius von 0,5 cm herumgewickelt wurde und dabei mit einer Wellenlänge von 580 nm durchleuchtet wird. Hierbei ist klar zu sehen, wie das

Licht durch die Faser geleitet wird und auch am Faserende austritt. Das Herausleuchten längs der Faser visualisiert zwar die Lichtleitung, ist jedoch unerwünscht. Dabei handelt es sich um Streuverluste. Diese können aufgrund von extrinsischen Defekten auftreten, wie bspw. der Einschluss von Staub, Fluktuationen im Kerndurchmesser oder auch Hohlräume innerhalb der Faser. Eine weitere Optimierung der Herstellung und eine dickere Mantelschicht würden diese Streuverluste reduzieren und die Lichtwellenleitung verbessern.^[8]

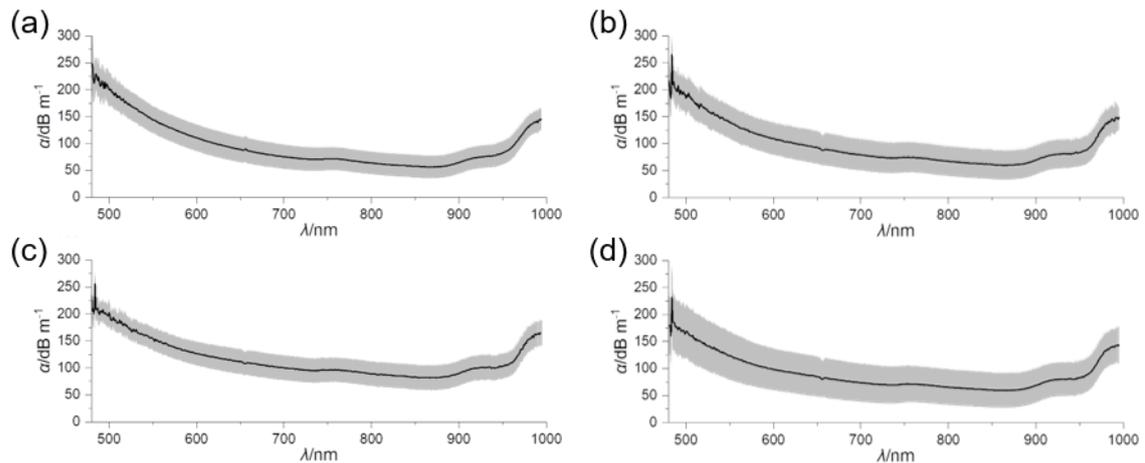


Abbildung 14: Dämpfungsverlauf von optischen Fasern auf Cellulose-Basis mit Standardabweichung in Abhängigkeit der Wellenlänge mit (a) RC als reine Kernfaser und (b) CDA, (c) CAP und (d) CAB als Mantelmaterial. Wiedergegeben mit Genehmigung.^[8] Urheberrecht 2021, American Chemical Society.

Für die Bestimmung der Dämpfung wurde hierbei das Substitutionsverfahren eingesetzt. Dafür wird die Intensität I_1 einer kurzen Faser mit der Länge L_1 mit der Intensität I_2 einer langen Faser mit der Länge L_2 verrechnet. Die Dämpfung α ergibt sich dann aus der Formel 3.

$$\alpha(\lambda) = 10/(L_2 - L_1) \cdot \lg(I_1(\lambda)/I_2(\lambda)) \quad (3)$$

Hierbei handelt es sich um eine zerstörungsfreie Methode. Die hergestellten Cellulose-basierten Lichtleitfasern zeigen einen ähnlichen Dämpfungsverlauf. Unterhalb von 480 nm wird die Intensität deutlich über die Nachweisgrenze hinaus abgeschwächt. Grund dafür sind vermutlich die in den Fasern enthaltenen Chromophore. Diese können selbst bei geringer Menge hohe Anteile des Lichts niedriger Wellenlängen absorbieren. Anschließend besitzen die optischen Fasern einen Dämpfungsstartwert von etwa 180-248 dB m⁻¹. Alle Spektren zeigen drei Absorptionsbanden: eine kleine Bande bei etwa 760 nm, eine mittlere Bande bei 925 nm und eine starke Bande bei 990 nm. Die reinen RC-Fasern, ohne Mantelmaterial, haben ein durchschnittliches Dämpfungsminimum von 56,12 dB m⁻¹ bei 864 nm. Die BioPOFs beschichtet mit CDA, CAP und CAB haben ihr jeweiliges Minimum von 59,75 dB m⁻¹ bei 862 nm, 81,68 dB m⁻¹ bei 854 nm und 59,22 dB m⁻¹ bei 866 nm. Die hergestellten optischen Fasern besitzen somit die niedrigsten Dämpfungswerte, die bisher für Cellulose-basierte Fasern berichtet wurden.^[8]

Optische Fasern werden aber nicht nur geradlinig eingesetzt, sondern es treten häufig sogenannte Makrobiegungen auf. In solchen gebogenen Lichtwellenleitern können Änderungen der Ausbreitungsmodi auftreten. Hierbei verbleibt die in der Meridionalebene eintretende Strahlung in dessen Strahlengang im gebogenen Teil der Faser. Sogenannte schräge Strahlen, die in diesem Winkel eintreten, folgen dort jedoch keinem bestimmten Muster mehr. Vorliegende

Makrokrümmungen verursachen nämlich Änderungen im lokalen Brechungsindexprofil. Dies führt wiederum zu veränderten Eigenschaften und zu einer erhöhten Dämpfung. Die numerische Apertur (NA) einer gebogenen Faser kann wie folgt berechnet werden (4).

$$NA(R, \phi) = n_1 \left[1 - \frac{n_2^2}{n_1^2} \left(\frac{R+r}{R-r \cdot \cos\phi} \right)^2 \right]^{1/2} \quad (4)$$

Wobei n_1 und n_2 die Brechungsindizes des Kerns bzw. der Mantelstruktur, R der Krümmungsradius, r der Radius der Kernstruktur und ϕ der Strahlenwinkel am Beginn der Biegung relativ zur Biegeebene sind. ϕ variiert hierbei von 0 bis 180° (siehe Abbildung 15).

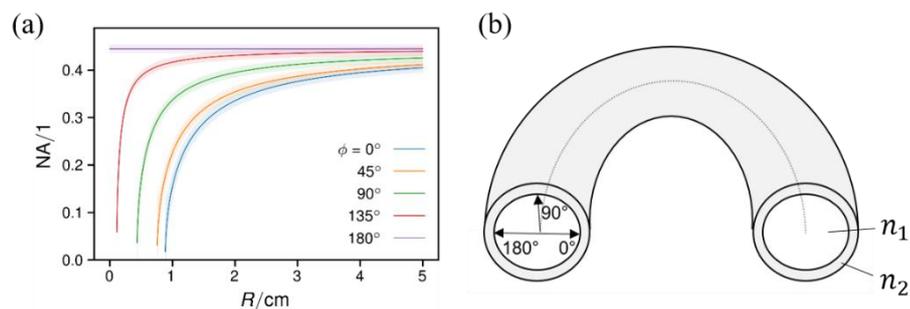


Abbildung 15: (a) Lokale NA in Abhängigkeit von den Biegeradien, berechnet mit dem mittleren Brechungsindex der Dämpfungsminima von RC als n_1 und CDA, CAP und CAB als n_2 . ϕ variiert von 0° (blau) bis 180° (violett) in regelmäßigen 45°-Schritten. (b) Schematische Darstellung eines gebogenen Faserabschnitts bestehend aus einem Faserkern mit dem Brechungsindex n_1 und einem Mantel mit dem Brechungsindex n_2 mit der Strahlenwinkelabhängigkeit von ϕ am Anfang der Biegung. Wiedergegeben mit Genehmigung.^[8] Urheberrecht 2021, American Chemical Society.

Eine NA von über 0,2 stellt hierbei für die Datenkommunikation einen bevorzugten Grenzwert dar. Für die hergestellten Fasern wurde daher der maximale Biegeradius berechnet, ab dem dieser Wert unterschritten wird (siehe Tabelle 4).^[8]

Tabelle 4: Maximaler Biegeradius der Cellulose-basierten optischen Fasern vor dem Unterschreiten einer NA von 0,2 bei der jeweiligen Wellenlänge des Dämpfungsminimums, mit $\phi = 0^\circ$ und $\phi = 150^\circ$. Wiedergegeben mit Genehmigung.^[8] Urheberrecht 2021, American Chemical Society.

Kern-Mantel	Biegeradius/cm	
	0°	150°
RC-CDA	1,14 ± 0,02	0,058 ± 0,001
RC-CAP	1,08 ± 0,02	0,054 ± 0,001
RC-CAB	1,10 ± 0,03	0,055 ± 0,001

Moraleda et al. untersuchten die Abhängigkeit der NA vom Biegeradius an einer optischen Faser auf Basis fossiler Rohstoffe. Diese Faser bestand aus einem 490 µm dicken Kern bestehend aus PMMA und einem Mantelmaterial bestehend aus einem fluorierten Polymer. Bei $\phi = 150^\circ$ fiel die Faser bei einem Biegeradius von etwa 0,08 cm unter eine NA von 0,2.^[15] Die Cellulose-basierten Fasern haben einen minimalen Biegeradius von etwa 0,054 bis 0,058 cm,

bevor sie bei demselben Winkel eine NA von 0,2 unterschreiten (siehe Tabelle 4). Die hergestellten Fasern weisen somit eine erhöhte Flexibilität hinsichtlich der optischen Eigenschaften in Anbetracht einer Anwendung für eine Datenkommunikation im Vergleich zu den genannten konventionellen Fasern auf PMMA-Basis auf.^[8]

Ausgehend von diesen Erkenntnissen wurden erneut Cellulosefasern hergestellt und im Kooperationsprojekt BionOptik I mit dem dort entwickelten eADF4(C16)-CBD Protein ummantelt. Die optischen Untersuchungen wurden anschließend im Projekt BionOptik II vorgenommen. Die Ummantelung mit eADF4(C16)-CBD führte zu einer Dämpfungserhöhung mit einem neuen Minimum von etwa 191 dB m^{-1} bei einer Wellenlänge von 878 nm. Die Dämpfungserhöhung ist vermutlich auf den Ummantelungsprozess zurückzuführen. Die entsprechenden Seidenproteine wurden über eine wässrige Lösung verarbeitet. Die Cellulosefasern wurden anschließend in die wässrige Lösung getaucht und mit der Seide ummantelt. Die Verarbeitung der Fasern in einem wässrigen Medium führte möglicherweise zum Quellen und Schwinden der Cellulosefasern und könnte die Entstehung interner Defekte begünstigen.

Neben diesen praktischen Versuchen wurde zusätzlich ein mathematisches Modell zur Berechnung der physikalischen Limitierung auf die Cellulose als Lichtwellenleiter angewendet. Dabei werden optische Eigenschaften ausschließlich anhand der molekularen Struktur bestimmt. Dies ermöglicht die Berechnung sämtlicher intrinsischer Dämpfungseffekte der Molekülstruktur wie z.B. die harmonischen Absorptionsvibrationen, elektronische Übergangsabsorptionen und Rayleigh Streuungen (siehe Abbildung 16). Das Ergebnis zeigt die optimale Dämpfung, die rein physikalisch erreicht werden kann. Herstellungsbedingte extrinsische Effekte, wie organische Kontaminationen, Staub, Ausbildung von Mikrohohlräumen, orientierte Doppelbrechungen, Fluktuationen des Kernstrukturdurchmessers oder auch Fehler der Kern-Mantel Grenzschicht werden hierbei vernachlässigt. Das Ergebnis zeigt demnach die Dämpfung, wenn die Herstellung absolut perfekt wäre und somit auch keinerlei Chromophore vorhanden wären. Dies ist ein rein theoretisches Modell, dem man sich in der Praxis nur annähern kann. Die Berechnung wurde nach Takezawa et al. (1992) durchgeführt.^[16]

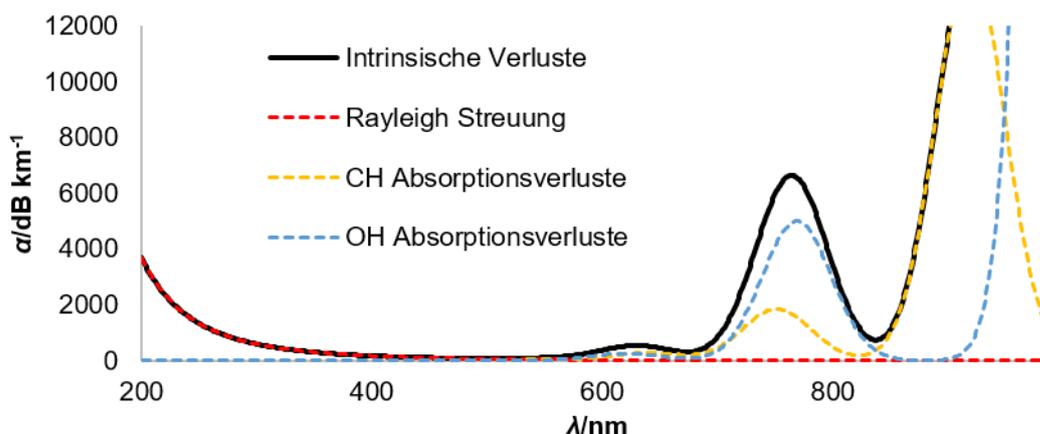


Abbildung 16: Intrinsische Dämpfungsverluste der Cellulose. Wiedergegeben mit Genehmigung.^[8] Urheberrecht 2021, American Chemical Society.

Da die Cellulose keine Absorption durch elektronische Übergänge aufweist, ergeben sich die intrinsischen Verluste aus der Rayleigh-Streuung und den CH- und OH-Absorptionsverlusten.

Im sichtbaren Bereich des Spektrums besitzt die Cellulose somit theoretische Dämpfungsmi-nima bei 672 nm und 832 nm mit jeweils einer Dämpfung von $86,3 \text{ dB km}^{-1}$ und $537,3 \text{ dB km}^{-1}$. Diese Werte sind vergleichbar mit den derzeitig kommerziell verfügbaren polymeroptischen Fasern auf PMMA, PC und PS Basis. Dies wird vor allem ersichtlich, wenn man die typischen Dämpfungswerte dieser auf fossiler Basis hergestellten POFs mit der intrinsischen Dämpfung der Cellulose vergleicht (siehe Tabelle 5).^[8]

Tabelle 5: Vergleich der intrinsischen Dämpfung der Cellulose mit den bekannten Dämpfungswerten von PMMA, PS und PC-Fasern.

Dämpfung/dB km ⁻¹				
λ/nm	PMMA	PS	PC	Cellulose (theor.)
538	55	-	-	99,1
570	-	330	-	170,9
670	-	-	600	324,6

Im groben besitzt die Cellulose die doppelte Dämpfung von PMMA, jedoch nur die Hälfte der Dämpfung von PS und PC Fasern. Daraus wird ersichtlich, dass eine weitere Optimierung der Herstellung von „normalen“ Cellulose-basierten Lichtwellenleiterstrukturen und dem entsprechend eine Annäherung an die physikalische Limitierung der Cellulose zur Entwicklung von BioPOFs führt, die kommerziell für die Datenkommunikation und für Multimediageräte eingesetzt werden könnten.^[8] Die aktuellen und experimentell bestimmten Daten der optischen Regeneratcellulose-Fasern zeigen schon jetzt entsprechend gute Werte für eine breite Anwendung im Bereich der Photomedizin.

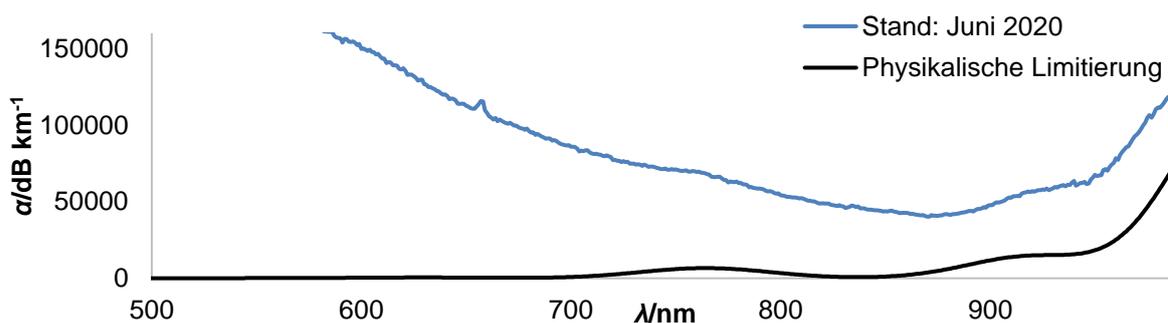


Abbildung 17: Vergleich der Dämpfung der Regeneratcellulose mit der physikalischen Limitierung der Cellulose.

In Abbildung 17 wird die Dämpfung der Regeneratcellulose mit der physikalischen Limitierung der reinen Cellulose im sichtbaren Bereich des Spektrums verglichen. Man erkennt hierbei, dass die Dämpfungsverläufe sehr ähnlich sind. Aufgrund der Chromophorenausbildung der realen Cellulose kommt es zu einer erhöhten Dämpfung bei niedrigen Wellenlängen. Beide Verläufe besitzen jedoch Dämpfungsmaxima bei etwa 763 nm, 922 nm und einen starken Anstieg um 1000 nm. Man erkennt hierbei, dass das theoretische Modell relativ gut mit den praktisch erzielten Ergebnissen übereinstimmt.

4.3 Arbeitspaket 3:

Im Folgenden werden die Ergebnisse und die zugehörigen Diskussionen des dritten Arbeitspakets dargestellt.

4.3.1 Aufgabe 1: Erzeugung von (mono-)dispersen Biopolymeranokugeln bestehend aus Regeneratcellulose.

Für die Herstellung nanoskaliger Cellulosekugeln wurden verschiedene Ansätze verfolgt. Ein vielversprechender Ansatz ist hierbei die Nanofällung von Celluloseestern mit anschließender Hydrolyse. Hierbei werden die Cellulosederivate CDA, CAB und CAP gelöst und in einem entsprechenden Koagulationsmedium gefällt. Der Einfluss des Lösungsmittels wurde über eine Fällung in einem Dialyseschlauch untersucht (siehe Abbildung 18). Durch den Einsatz von Aceton und DMAc als Lösungsmittel entstehen hierbei kleinere Partikel mit einer kantigen und unregelmäßigen Form. Die Partikel, die aus THF hergestellt wurden, weisen zwar einen größeren Durchmesser mit breiter Größenverteilung auf, besitzen aber auch eine glatte Oberfläche und kugelförmige Struktur. Da die Form schwieriger zu beeinflussen ist als die entsprechende Größenverteilung, wurde dementsprechend THF für weitere Untersuchungen als Lösungsmittel eingesetzt.

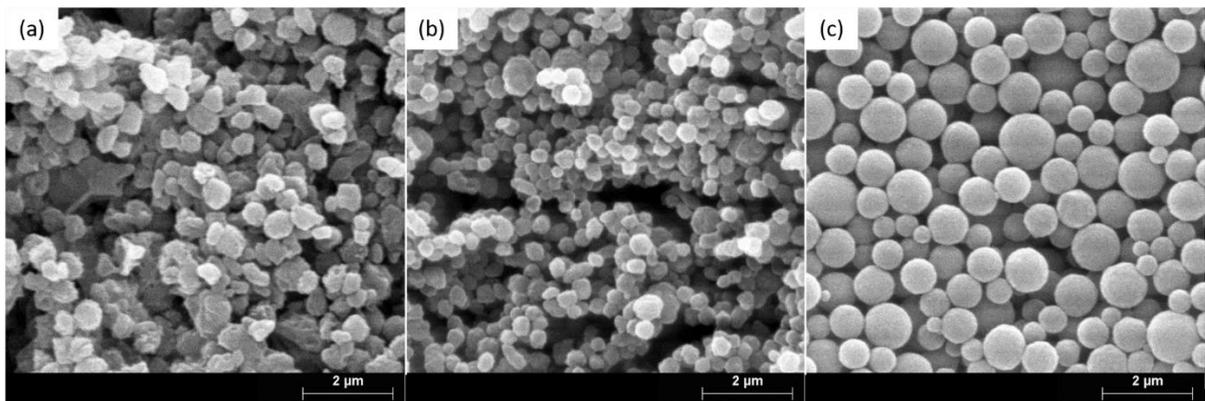


Abbildung 18: REM-Aufnahmen von CDA-Partikeln. Die Herstellung erfolgte durch Fällung im Dialyseschlauch mit verschiedenen Lösungsmitteln, wie (a) Aceton, (b) DMAc und (c) THF.

Anschließend wurde der Einfluss sowohl der Rührgeschwindigkeit als auch der Polymerisationsgrad auf die Partikelgrößenverteilung untersucht (siehe Abbildung 19). Sämtliche Parameter wie Volumen der Lösung, Volumen des Koagulationsmediums, Größe des Gefäßes, sowie Größe und Form des Rührfisches blieben hierbei konstant.

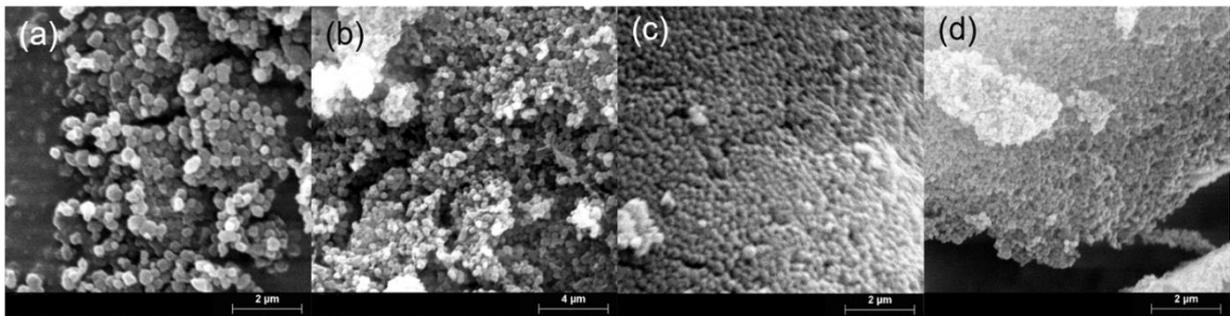


Abbildung 19: CDA-Partikel hergestellt bei (a) 1000 rpm, (b) 400 rpm, (c) 100 rpm, (d) niedrigerem Polymerisationsgrad.

Die Verringerung der Rührgeschwindigkeit und die Reduzierung des Polymerisationsgrads der eingesetzten Polymere führen neben einer Verringerung der Partikelgröße auch zu einer Verengung der Partikelgrößenverteilung. Zusätzlich wurde der Einfluss der Konzentration der Polymerlösung auf die anschließende Partikelgröße untersucht (siehe Abbildung 20).

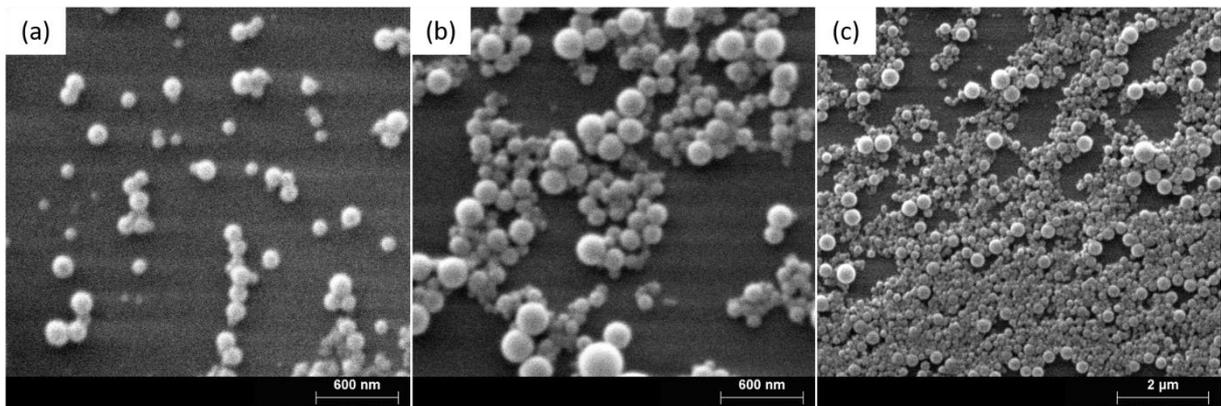


Abbildung 20: Über Nanofällung hergestellte Partikel. Die Partikel wurden aus einer jeweiligen Konzentration von (a) 10 mg mL⁻¹, (b) 15 mg mL⁻¹ und (c) 20 mg mL⁻¹ hergestellt.

Die Partikelgrößenverteilung wurde über das Programm ImageJ bestimmt. Der Mittelwert sowie die Standardabweichung wurden jeweils ermittelt.

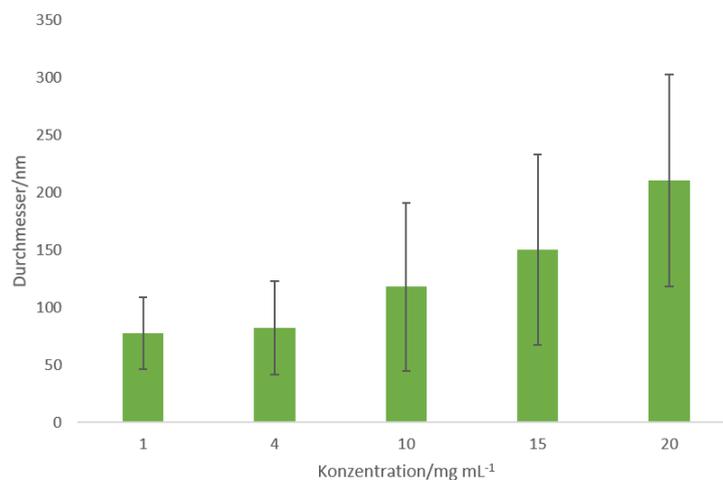


Abbildung 21: Mittlere Partikelgröße mit Standardabweichung bei aufsteigender Konzentration der genutzten Polymerlösung.

Aus Abbildung 21 wird ersichtlich, dass eine Verringerung der Polymerkonzentration nicht nur zu einer Reduzierung der mittleren Partikelgröße sondern auch zu einer Verminderung der Standardabweichung führt. Ausgehend von diesen Erkenntnissen wurden die Prozessparameter der Nanofällung angepasst. Eine Hochskalierung der Ansätze ist jedoch nicht möglich, da dies zu Partikeln mit größerem Durchmesser und zu einem Anstieg der Standardabweichung führt. Um eine ausreichende Menge an Nanopartikeln zu produzieren, wurde der angepasste Prozess mehrfach wiederholt. Die hergestellten Partikel wurden anschließend deacetyliert, um Cellulose-Nanopartikel zu erhalten. Die Charakterisierung dieser Partikel fand über FTIR-Spektroskopie und Rasterelektronenmikroskopie statt.

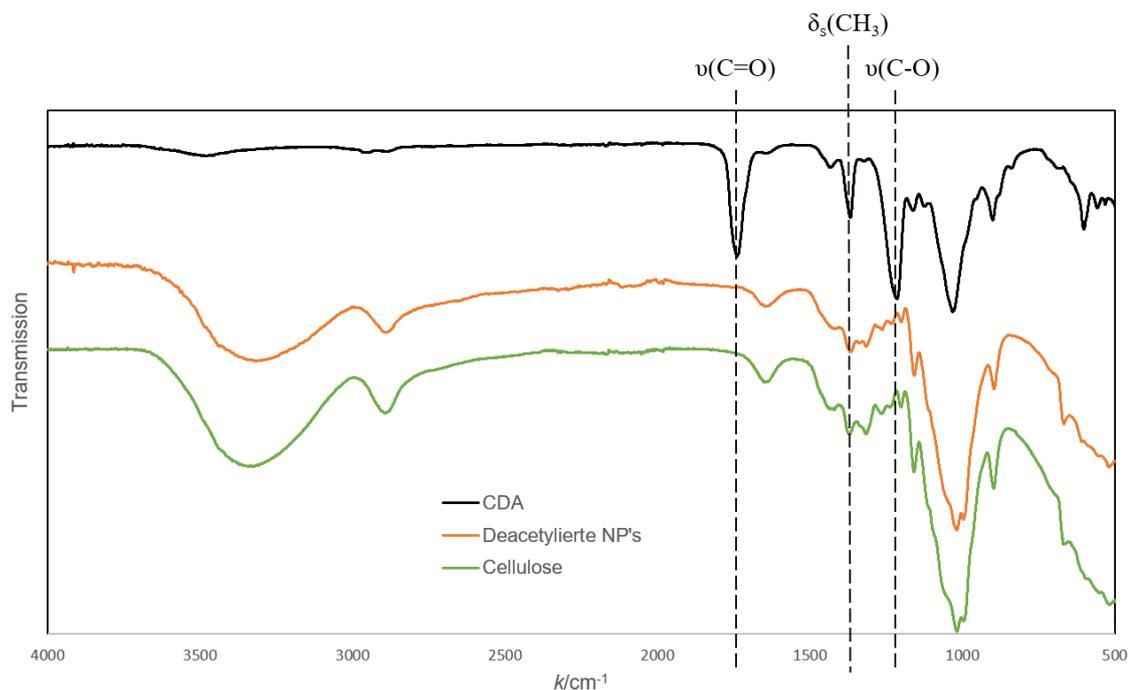


Abbildung 22: FTIR-Spektrum von CDA, deacetylierten Nanopartikeln und Cellulose. Die Spektren der deacetylierten Nanopartikel und der Cellulose sind zur besseren Übersichtlichkeit vertikal verschoben.

Die FTIR-Analysen wurden anhand des CDA-Edukts, der deacetylierten CDA-Nanopartikel und der reinen Cellulose durchgeführt. Dies ermöglicht die Überprüfung der Deacetylierung der hergestellten Nanopartikel. Die wichtigsten FTIR-Absorptionsbanden für CDA sind in Abbildung 22 dargestellt. Die Absorptionsbande bei 1739 cm^{-1} ist der C=O-Ester-Streckschwingung des Carbonyls zugeordnet. Die Methyl-Biegeschwingung bei 1366 cm^{-1} und die C-O-Streckschwingung der Acetylgruppe bei 1217 cm^{-1} sind zusätzliche charakteristische Schwingungen von CDA.^[17] Nach der Deacetylierung sind diese Banden nicht mehr vorhanden. Das Spektrum der deacetylierten Partikel gleicht nun dem FTIR-Spektrum einer reinen Cellulose.

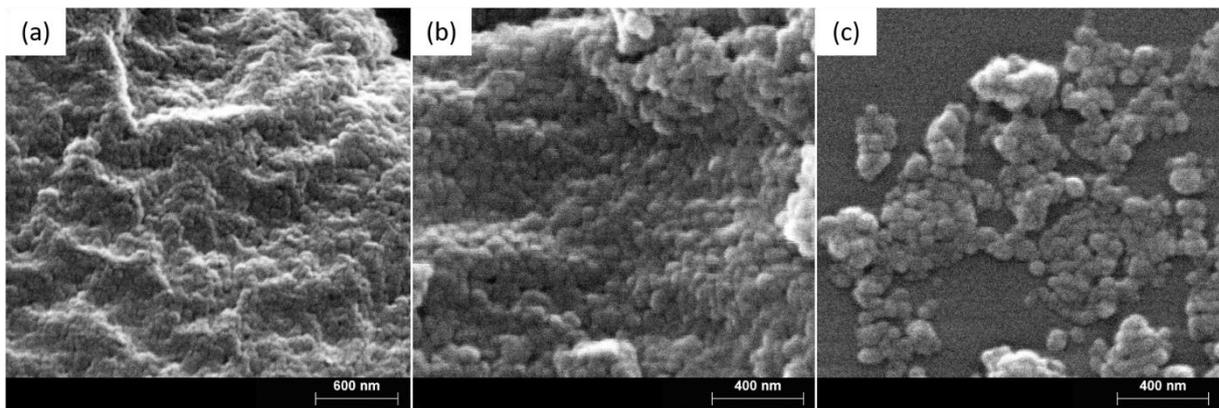


Abbildung 23: REM-Aufnahmen von Cellulose-Nanopartikeln aus unterschiedlichen Chargen.

Aufgrund der hohen Anzahl an freien Hydroxylgruppen und der großen Oberfläche der einzelnen Nanopartikel finden verstärkt intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den Partikeln statt. Die Cellulose-Nanopartikel bilden somit Agglomerate aus, die eine unregelmäßige Struktur und Anordnung besitzen (siehe Abbildung 23 (a) und (b)). Selbst bei stark verdünnten Dispersionen lagern sich einzelne Kugeln zusammen (siehe Abbildung 23 (c)). Bei der Trocknung von gequollenen Kugeln kann es hierbei zu einer molekularen Interdiffusion und Umstrukturierung der Cellulose kommen.^[18] Dabei bilden sich größere Agglomerate aus vereinzelt Kugeln, die anschließend nicht mehr zu erkennen sind. Die Auflösung der erzeugten Bilder und die Agglomeration der Cellulose-Partikel erschweren die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung einzelner Chargen.

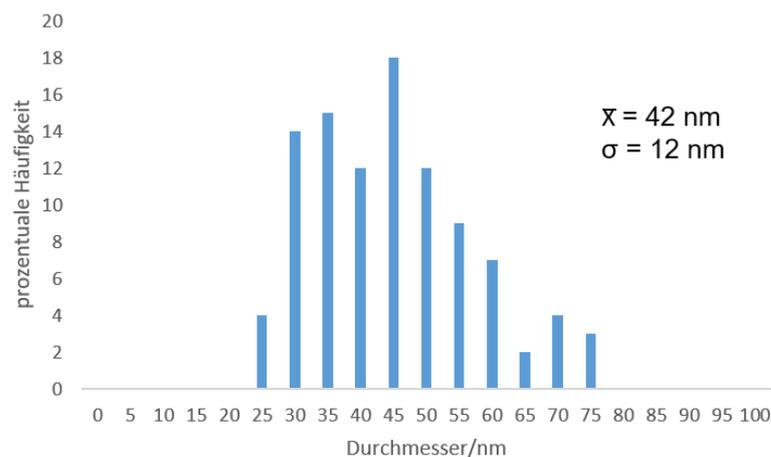


Abbildung 24: Partikelgrößenverteilung der hergestellten Cellulose-Nanopartikel.

In Abbildung 24 ist die Partikelgrößenverteilung einer erzeugten Charge zu sehen. Der Mittelwert liegt bei $42 \text{ nm} \pm 12 \text{ nm}$. Selbst in Anbetracht der potentiellen Fehlerquellen befinden sich die Cellulose-Partikel in einer Größenordnung unter 100 nm und somit in der Dimension der SiO_2 -Nanokügelchen des Gießkannenschwamms *Euplectella aspergillum*. Da es sich bei Cellulose um ein Naturprodukt handelt, ist der Polymerisationsgrad nie einheitlich. Die Länge einzelner Polymerketten und somit die Anzahl der einzelnen Anhydroglucoseeinheiten variiert je nach Herkunft und Handhabung. Selbst die Methode der Nanofällung erzeugt in Anbetracht des Prozesses des Kristallwachstums keine identischen Partikelgrößen. Die Erzeugung von

monodispersen Kugeln ist daher kaum möglich. Da die Durchmesser einzelner Kugeln um etwa 12 nm variieren, kann dies jedoch als recht einheitlich angesehen werden. Da die Methode reproduzierbar ist, konnten über mehrere Chargen ähnliche Partikelgrößenverteilungen erzeugt werden, die sich nur in geringem Maß unterscheiden. Diese wurden kombiniert und zur Herstellung von bionischen Lichtwellenleiterstrukturen eingesetzt.

Neben der Herstellung von Nanopartikeln über die Nanofällung der Cellulosederivate wurden auch weitere Methoden überprüft. Die direkte Nanofällung reiner Cellulose war bisher aufgrund der sofort eintretenden Agglomeration nicht möglich. Außerdem wurde die Methode des Premix-Membranemulgierens untersucht. Bei diesem Vorgang wird eine Rohemulsion durch das Mischen einer Cellulose-Lösung mit einem Silikonöl hergestellt. Diese Emulsion wird unter Druck durch eine Membran befördert. Der transmembrane Druck sowie die implizierte Scherspannung führen zum Tropfenaufbruch der dispersen Phase der Emulsion. Dadurch werden die Tropfen gelöster Cellulose in kleinere Tropfen gebrochen. Diese können anschließend in einem Koagulationsmedium aufgefangen werden. Hierbei fällt die Cellulose in Form der Tropfen aus. Durch das einmalige Premix-Membranemulgieren konnten ausschließlich Cellulose Partikel im Submikrometerbereich von etwa 400 nm bis 1000 nm hergestellt werden (siehe Abbildung 25). Über einen Multipass-Prozess mit ausreichender Passagenzahl, in der die Porengröße kontinuierlich verkleinert wird, wäre es möglich einheitlichere Partikel im Nanometerbereich herzustellen.

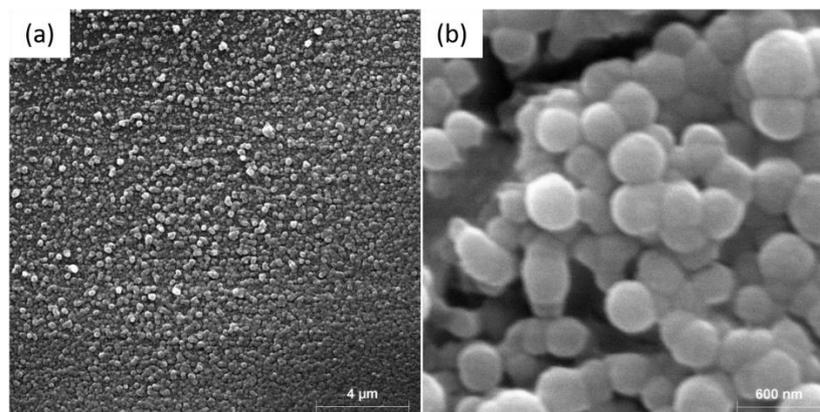


Abbildung 25: REM-Aufnahmen von Cellulose Partikeln im Submikrometerbereich mit (a) 5000x und (b) 30000x Vergrößerung. Hergestellt über das Premix-Membranemulgieren.

Der Einsatz eines Ultraschallsprühers erzeugt einen feinen Nebel, der wiederum aus Tropfen gelöster Cellulose besteht. Durch das Auffangen des Nebels in einem Koagulationsmedium entstehen neben unregelmäßigen Strukturen, auch Cellulose Partikel in einer Größenordnung von etwa 20 µm (Perlcellulose). Auf deren Oberfläche befinden sich jedoch in unregelmäßigen Abständen weitere Partikel in der gewünschten und angestrebten Größenordnung (siehe Abbildung 26). Diese Methode könnte somit zur Herstellung von nanoskaligen Partikeln genutzt werden. Die dauerhafte Nutzung von Ultraschall führt jedoch zu einer rasanten Temperaturerhöhung. Dies beeinflusst wiederum die Erzeugung von Partikeln und kann zur Beschädigung des Gerätes führen. Für die Herstellung von Nanopartikeln im größeren Mengenbereich müsste eine aktive Kühlung des Gerätes durchgeführt werden.

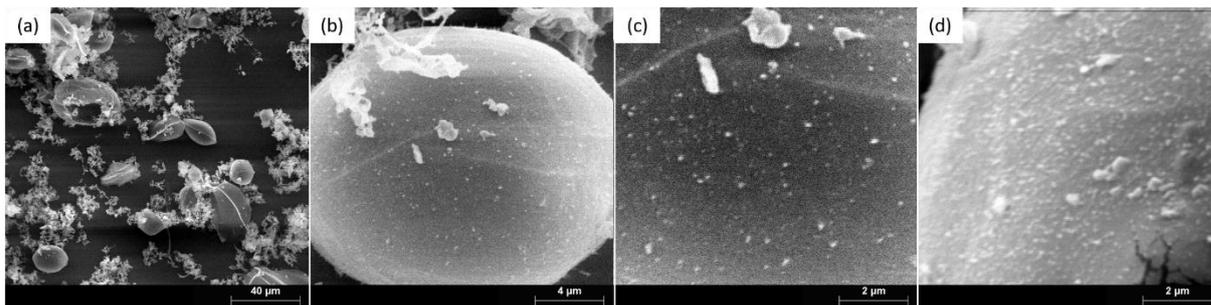


Abbildung 26: REM-Aufnahmen von Cellulose-Aggregaten nach dem Ultraschallsprühen mit (a) unregelmäßigen Strukturen im Mikrometerbereich, (b) Perlcellulose ($d \approx 20 \mu\text{m}$) sowie (c) und (d) nanoskaligen Partikeln auf Perlcellulose-Oberflächen.

Zusätzlich wurde die Methode des Elektroprühens untersucht. Hierbei wird eine verdünnte Lösung durch ein erzeugtes elektrisches Feld von einer Elektrode angezogen und beschleunigt. Das Lösungsmittel verdunstet und die erzeugten Partikel werden in der Gegenelektrode abgelagert. Das gezielte Elektroprühen einer reinen Cellulose-Lösung war bisher noch nicht erfolgreich. Die Zusammensetzung der Lösung führte bisher beim Anlegen einer Hochspannung (1-25 kV) zur Ausbildung von Klumpen, die den weiteren Vorgang des Prozesses unterbrochen haben. Die Cellulose-Lösung müsste für dieses Verfahren weiter optimiert werden. Der Einfluss verschiedener Prozessparameter wie Arbeitsabstand, Spannung und Flussrate wurde an CDA-Lösungen untersucht. Eine Erhöhung der Spannung führte sowohl zu einer Reduzierung der Partikelgröße als auch zu einer Senkung der Standardabweichung. Der Arbeitsabstand der elektrischen Felder besitzt ein konkretes Optimum. Eine Verringerung bzw. Erhöhung des Abstands führte wiederum zur Erhöhung der erzeugten Partikeldurchmesser. Eine geringere Flussrate hingegen begünstigte die Entstehung kleinerer Partikel. All diese Parameter sind jedoch von der Viskosität und der Zusammensetzung der zu untersuchenden Polymerlösung abhängig.

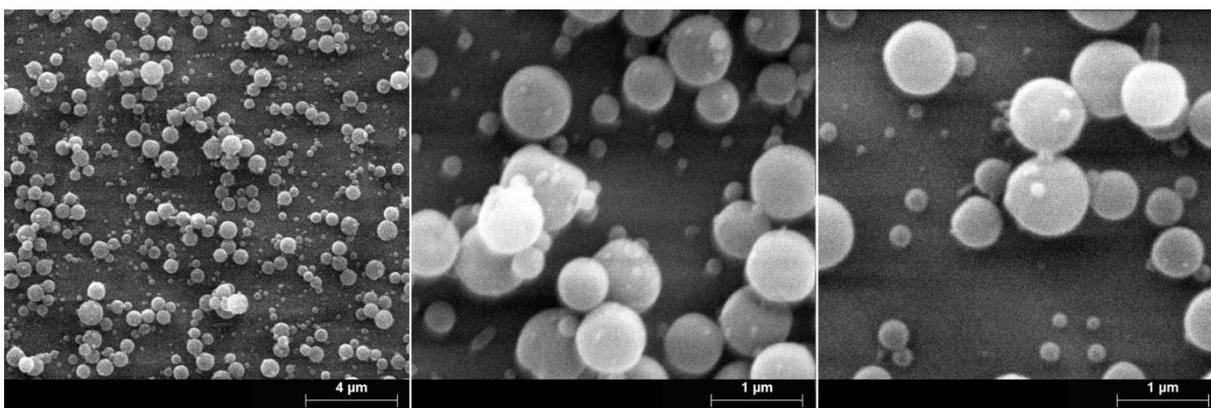


Abbildung 27: Elektrogesprühte CDA-Partikel bei unterschiedlichen Prozessparametern.

Die hergestellten Partikel weisen eine perfekte kugelförmige und glatte Struktur auf. Die Partikelgrößenverteilung ist im Vergleich zu den anderen genannten Methoden jedoch deutlich breiter (siehe Abbildung 27). Die Prozessparameter müssten weiter optimiert werden, um eine größere Menge kleinerer Partikel zu erzeugen. Diese Methode ermöglicht jedoch die Herstellung von nanoskaligen Sphären. Die CDA-Partikel könnten weiterhin nach ihrer Größe separiert und anschließend deacetyliert werden, um Cellulose-Kugeln herstellen zu können.

4.3.2 Aufgabe 2: Anpassung des Prozesses für die Herstellung von (mono-)dispersen Biopolymernanokugeln bestehend aus Spinnenseidenproteinen.

Die genannten Methoden zur Herstellung von nanoskaligen Kugeln konnten nicht auf das modifizierte Seidenprotein angewendet werden. Die im Kooperationsprojekt BionOptik I entwickelte bindende Variante weist eine hohe Scherempfindlichkeit auf und muss in wässriger Lösung gehalten werden, um die Proteinfaltung zu konservieren. Es konnte dementsprechend kein Materialaustausch stattfinden, da ein Transport der Proteinlösung ohne Beschädigung der Faltung nicht realisierbar ist.

4.4 Arbeitspaket 4:

Im Folgenden werden die Ergebnisse und die zugehörigen Diskussionen des vierten Arbeitspakets dargestellt.

4.4.1 Aufgabe 1: Aufbau und Charakterisierung komplexer Lichtwellenleiterarchitekturen nach dem biologischen Vorbild des Gießkannenschwamms *Euplectella aspergillum*.

Der Gießkannenschwamm *Euplectella aspergillum* besteht aus konzentrisch orientierten Glas-kugeln im Nanometerbereich. Diese bilden alternierende Schichten aus, die anschließend zu einer stabilen Faser führen. Um diesen Aufbau zu rekonstruieren, wurden hergestellte Cellulose Partikel in Wasser dispergiert, in einen Schlauch gefüllt und getrocknet. Da die Herstellung und Ansammlung von nanoskaligen Partikeln einen hohen Zeitaufwand in Anspruch nimmt, wurden die Versuche im Vorfeld mit größeren Partikeln erprobt. Das Eintrocknen einer Cellulose-Dispersion wurde mit Perlcellulose durchgeführt. Man erhielt ein kurzes etwa 1 cm langes Fasersegment (siehe Abbildung 28).

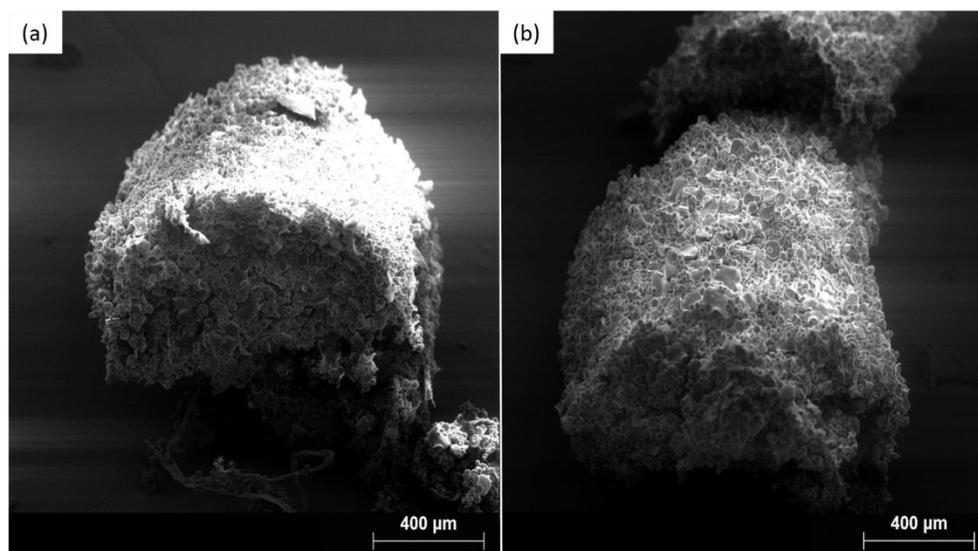


Abbildung 28: REM-Aufnahmen hergestellter bionischer Fasern durch Selbstanlagerung. In (a) mit halbiertem Querschnitt und in (b) längsmäßig gebrochen.

Die intermolekularen Wechselwirkungen zwischen den Kugeln reichen aus damit sich eine faserartige Struktur ausbildet. Diese Struktur ist jedoch gegen äußere Krafteinwirkungen nicht

formstabil und zerfällt leicht. In Abbildung 28 (a) erkennt man den zerfallenen Querschnitt der Faser. Ein halber kreisrunder Querschnitt ist zu sehen. Die andere Hälfte ist während der Probenpräparation zerfallen. Abbildung 28 (b) hingegen zeigt eine gebrochene Faser aufgrund einer ausgeübten Biegung. Die Stabilität solcher Fasern wäre somit für eine technische Anwendung nicht ausreichend.

Um die Stabilität dieser bionischen Fasern zu fördern, wurden die Zwischenräume der Kugeln mit Cellulose aufgefüllt. Dafür werden die Cellulose-Kugeln in einer Cellulose-Lösung dispergiert. Ohne zusätzliche Temperaturerhöhung verbleiben die Kugeln in ihrer Form und lösen sich nicht auf. Diese Dispersion wird in angepasster Form wie die Cellulosefasern über die Nassspinnapparatur verarbeitet, gewaschen und getrocknet. Die erhaltenen bionischen Fasern sind formstabil und leicht biegsam (siehe Abbildung 29). Sowohl an der Faseroberfläche als auch im Querschnitt sind einzelne Kugeln zu erkennen. Die Faser ähnelt somit dem prinzipiellen Aufbau des Gießkannenschwamms. Durch den Einbau von Partikeln im Mikrometerbereich können diese Fasern kein Licht leiten.

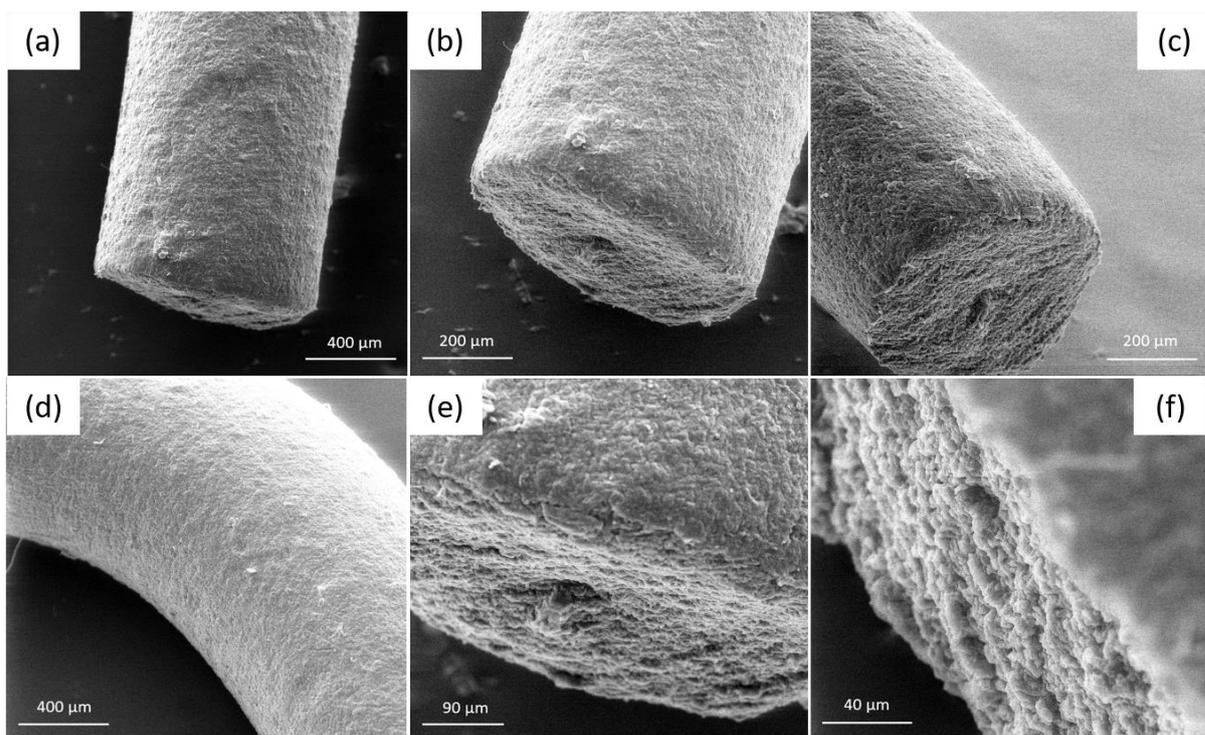


Abbildung 29: REM-Aufnahmen hergestellter bionischer Fasern bestehend aus Pericellulose. In (a), (b) und (c) weitläufige Übersicht über die Querschnittsfläche und den Fasermantel. Teilabbildung (d) zeigt ein gebogenes Fasersegment. In (e) und (f) sind Detailaufnahmen des Faserquerschnitts zu erkennen.

Für die Herstellung von bionischen Fasern bestehend aus Nanopartikeln wurden anschließend zwei Ansätze verfolgt. Hierbei sollen die Fasern über den entsprechenden Nassspinnprozess oder durch die Ausnutzung selbstrollender Biopolymerschichten entstehen.

Für den Nassspinnprozess wurden die angesammelten Nanopartikel in der Cellulose-Lösung dispergiert, blasenfrei in eine Spritze aufgezogen und über eine Spritzenpumpe in ein EtOH-Koagulationsbad befördert. Die entstehende Faser wurde mehrfach in Wasser gewaschen und

unter Zugspannung getrocknet. Die weißen Fasern waren deutlich spröder als die bionischen Fasern bestehend aus Perlcellulose. Die hergestellten Filamente weisen eine unregelmäßige faserartige Struktur auf. Auf der Faseroberfläche sind sowohl kleine als auch größere Cellulose-Agglomerate zu erkennen (siehe Abbildung 30 (a)). Der Faserquerschnitt weist teilweise ein eher leicht sternförmiges bis kreisrundes Muster auf (siehe Abbildung 30 (b) und (c)). Die Vergrößerung in Teilabbildung (d) zeigt, dass die Faser aus den hergestellten Nanopartikeln aufgebaut ist. Es konnten bislang keine Lichtleiteneigenschaften nachgewiesen werden.

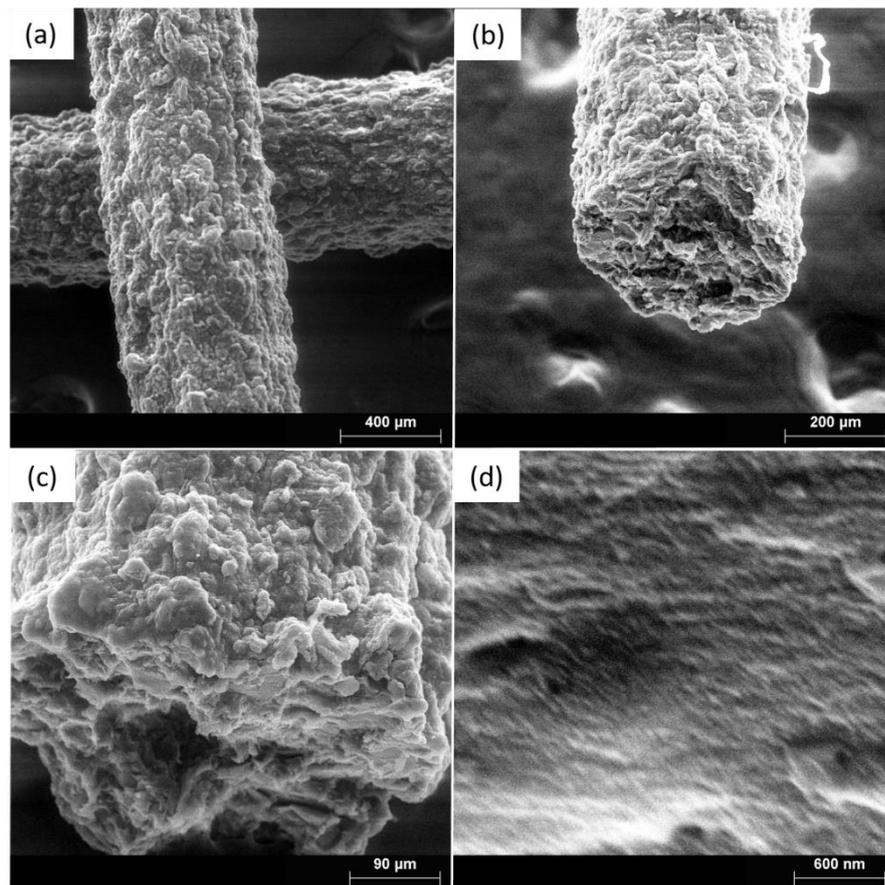


Abbildung 30: REM-Aufnahmen hergestellter bionischer Fasern bestehend aus Cellulose Nanopartikeln. In (a) und (b) weitläufige Übersicht über die Querschnittsfläche und Faseroberfläche. Teilabbildungen (c) und (d) zeigen die detaillierte Querschnittsfläche.

Über den Nassspinnprozess konnte erneut eine bionische Faser ähnlich der Struktur des Gießkannenschwamms hergestellt werden. Da die Nanopartikel im Vergleich zur Perlcellulose eine deutlich höhere Oberfläche besitzen, ist anzunehmen, dass die intermolekularen Wechselwirkungen zwischen den Kugeln deutlich stärker sind im Vergleich zur Perlcellulose. Dies könnte dazu geführt haben, dass sich beim Nassspinnprozess unregelmäßige Aggregate bilden und sich anschließend zu einer Faser formen. Eine solche Problematik könnte durch die Herstellung von Nanopartikeln über mehrere Chargen und somit leicht abweichende Größenverteilungen der Partikel verstärkt werden. Die hergestellte Faser besitzt somit keine Ordnung und es ist davon auszugehen, dass nicht nur die Oberfläche der Faser unregelmäßig ist, sondern dass auch innerhalb der Faser sowohl unregelmäßige Aggregate als auch Defekte vorherrschen. Dies führt zur vermehrten Streuung und somit auch zur fehlenden Leitung von Licht. Eine Anpassung des Nassspinnprozesses könnte aber zum gewünschten Ergebnis führen.

Hierbei müsste man das Verhältnis zwischen Nanopartikeln und Cellulose-Lösung in der Dispersion, die Flussrate beim Nassspinnen sowie den Einfluss des Durchmessers der hergestellten Kernfaser gezielter untersuchen. Die größte Herausforderung hierbei ist die benötigte Menge an Nanopartikeln. Verschiedene Methoden ermöglichen zwar die Herstellung von Cellulose-Nanopartikeln, die gesamte Herstellung kann jedoch nur über die zeitaufwändige Produktion von mehreren Chargen erfolgen. Bei einer funktionierenden Lichtwellenleitung könnten diese Fasern anschließend mit dem Spinnenseidenprotein ummantelt werden, um eine bionische Faser aus Cellulose-Nanopartikeln und dem modifizierten Spinnenseidenprotein aufzubauen.

Die Anwendung selbstrollender Filme zur Herstellung von bionischen Fasern wurde im Kooperationsprojekt BionOptik I durchgeführt. Dafür wurden entsprechende Cellulose-Nanopartikel zum Projektpartner versendet. Entsprechend der Veröffentlichung von Aigner und Scheibel wurden selbstrollende Filme auf Basis von Spinnenseide und Chitosan genutzt.^[13] Die Ergebnisse werden im Kooperationsprojekt BionOptik I umfassend beschrieben. Der Aufbau einer bionischen Faser war dadurch bislang nicht möglich (siehe Abbildung 31). Die Cellulose-Nanopartikel bilden keine ausreichend starke Achse, um die sich die selbstrollenden Seidenfilme wickeln können. Die Ummantelung konnte dadurch nicht perfekt ausgebildet werden. Die noch losen Nanopartikel konnten somit aus dem Querschnitt entweichen.

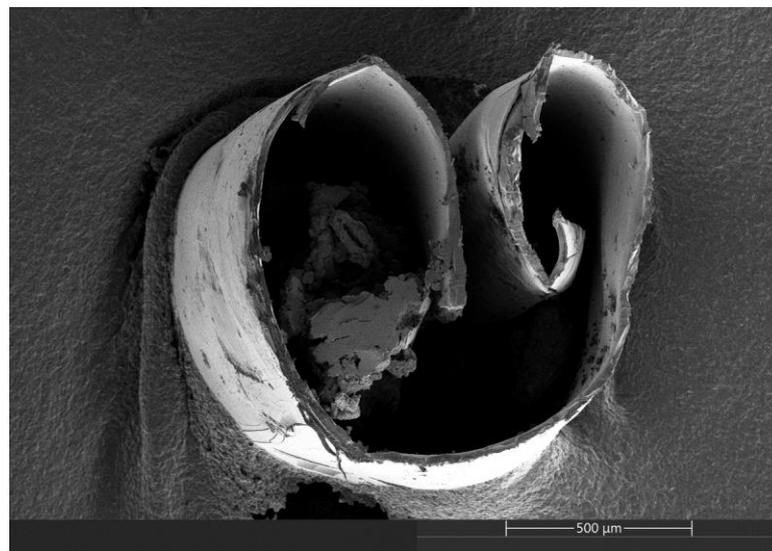


Abbildung 31: REM-Aufnahme des fehlgeschlagenen Versuchs zum Aufbau einer bionischen Faser bestehend aus Cellulose-Nanopartikel-Kern und einem selbstrollenden Spinnenseidenmantel.

5 Veröffentlichungen im Rahmen des Projekts

07.10.2019, Nürnberg - Auftaktveranstaltung BayBionik

13.12.2019, Nürnberg - BayBionik Kick-off Veranstaltung

Aufgrund der Corona bedingten Situation fiel die geplante Präsentation in der European Material Research Society-Konferenz vom 25.-29. Mai 2020 in Straßburg aus.

24.11.2021, Nürnberg – BZ-Vortragsreihe Bionik

Reimer, M., Zollfrank, C., Cellulose for Light Manipulation: Methods, Applications, and Prospects. *Adv. Energy Mater.* 2021, 2003866.

Reimer, M., Van Opendenbosch. D., Zollfrank, C.: Fabrication of Cellulose-Based Biopolymer Optical Fibers and Their Theoretical Attenuation Limit, *Biomacromolecules* 2021, 22, 8, 3297–3312.

6 Zusammenfassung

Ziel des Projekts „Bionische High-Tech-Materialien für optische Anwendungen (BionOptik II)“ war die Herstellung und Charakterisierung von Lichtwellenleitern aus den nachhaltigen Rohstoffen Cellulose und Spinnenseidenprotein.

Hierbei wurde der Auflösungsprozess der Cellulose im binären Lösungsmittelsystem DMAc/LiCl optimiert. Die benötigte Temperatur konnte dadurch um 40 °C im Vergleich zur Literatur reduziert werden. Aufgrund der dadurch verringerten Vergilbung konnten äußerst transparente Cellulosematerialien regeneriert werden. Über die TMM konnten die optischen Eigenschaften der Regeneratcellulose vollständig bestimmt werden. Der Meilenstein M1 wurde somit erreicht.

Der Einfluss der Nachbehandlung der Seidenproteine eADF4(C16) mit Ethanol wurde genauer untersucht. Eine Nachbehandlung mit einem Massenanteil an Ethanol von 75 % brachte bisher die besten Ergebnisse in Bezug auf Transparenz und Flexibilität. Über die TMM konnten die optischen Daten dieser Seidenproteine bestimmt werden. Das physikalische Kriterium der Totalreflexion ist anhand dieser genutzten Biopolymere erfüllt. Die optischen Daten der aus BionOptik I hergestellten und modifizierten Spinnenseidenproteine konnten nicht ermittelt werden. Hierbei ist jedoch ein ähnlicher Trend im Vergleich zu eADF4(C16) anzunehmen. Der Meilenstein M2 wurde somit erreicht. Das 1. Arbeitspaket wurde daher vollständig bearbeitet.

Ein einfacher Nassspinnprozess wurde entwickelt, um Cellulosefilamente für die Lichtwellenleitung herstellen zu können. Diese Fasern wurden mit Cellulosederivaten und der Spinnenseide mit Cellulosebindungsdomäne ummantelt. Die rein aus Cellulose bestehenden Lichtwellenleiterstrukturen weisen mit 56-82 dB m⁻¹ die niedrigsten Dämpfungswerte auf, die bisher für Cellulose-basierte Lichtwellenleiter in der Literatur berichtet wurden. Die Ummantelung mit der modifizierten Spinnenseide führte zu einer Dämpfungserhöhung. Das Dämpfungsminimum lag hierbei bei 191 dB m⁻¹ bei einer Wellenlänge von 878 nm. Durch die Bestimmung der physikalischen Limitierung der Cellulose als Lichtwellenleiter konnte das theoretische Potential zukünftiger Cellulose-basierter Lichtwellenleiter abgeschätzt werden. Eine Verbesserung und Optimierung der Herstellung würde zu einer Herabsetzung extrinsischer Dämpfungsverluste führen, wodurch kommerzielle Fasern generiert werden könnten, die fossil-basierte optische Fasern in Zukunft substituieren können. Das 2. Arbeitspaket wurde damit vollständig bearbeitet.

Über die Nanofällung, dem Premix-Membran-Emulgieren, Ultraschallsprühen und Elektrosprühen wurden Cellulosepartikel produziert. Die Nanofällung von Cellulosederivaten mit anschließender Deacetylierung war hierbei die effektivste Methode zur Herstellung von Nanopartikeln im größeren Maßstab. Hierbei konnten Chargen mit einem Partikeldurchmesser von 42 nm ± 12 nm generiert werden. Der Meilenstein M4 wurde somit erreicht. Eine Anpassung des Prozesses zur Herstellung von Nanopartikeln aus Seide war nicht möglich. Der Meilenstein M5 konnte daher nicht erreicht werden.

Mehrere Chargen wurden anschließend gesammelt und über einen Nassspinnprozess zu einer nach dem Gießkannenschwamm *Euplectella aspergillum* inspirierten bionischen Faser verarbeitet. Interne Defekte führen womöglich zu vermehrter Streuung und verhindern eine

aktive Lichtleitung. Eine Verfeinerung der Nanofällung mit größeren Ansätzen und eine Optimierung des Nassspinnprozesses zur Herstellung der entsprechenden bionischen Faser könnte in der Zukunft zu einer biologisch inspirierten Lichtwellenleiterstruktur führen. Der Meilenstein M6 konnte daher nicht vollständig erreicht werden.

Tabelle 6: Darstellung des Zeitplans, um die gesetzten Meilensteine (M1-M6) zu erreichen. Die jeweils erreichten, nicht vollständig erreichten und nicht erreichten Meilensteine sind entsprechend in grün, gelb, oder rot gekennzeichnet.

Projektjahr	2019				2020				2021				2022			
Quartal	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1): Arbeitspaket 1																
Aufgabe 1						M 1										
Aufgabe 2											M 2					
2): Arbeitspaket 2																
Aufgabe 1											M 3					
3): Arbeitspaket 3																
Aufgabe 1															M 4	
Aufgabe 2															M 5	
4): Arbeitspaket 4																
Aufgabe 1															M 6	

7 Bewertung und Ausblick

Cellulose weist eine hohe Transparenz und gute Verarbeitbarkeit auf. Die optischen Eigenschaften konnten vollständig charakterisiert werden. Eine weitere Optimierung der Herstellung der Cellulose-Lösung könnte hierbei die Ausbildung von Chromophoren und somit die Vergilbung reduzieren und die optischen Eigenschaften weiter verbessern. Die Anwendung von anderen unbedenklichen Lösungsmittelsystemen könnte den Anwendungsbereich „normaler“ Lichtwellenleiterstrukturen auf Basis von Cellulose vor allem im medizinischen Bereich erweitern.

Die Verarbeitbarkeit der modifizierten Spinnenseidenproteine muss weiter optimiert werden. Durch die Herstellung von etwa 50 μm dicken und transparenten Filmen könnten die optischen Eigenschaften dieser Seidenfilme ebenfalls vollständig bestimmt werden. Aus den erhaltenen optischen Daten könnten weitere Kennzahlen für die Charakterisierung von Cellulose-Spinnenseiden-Lichtwellenleiterstrukturen, wie z.B. die theoretische Gruppengeschwindigkeit eines Lichtimpulses, die Impulsverbreiterung in Abhängigkeit der Weglänge, der wellenlängenabhängige Materialdispersionskoeffizient, die maximale Zeitverzögerung zwischen längstem und kürzestem Modi innerhalb einer Multimodefaser sowie die Bandweite und Datenrate ermittelt werden.

Die berechnete physikalische Limitierung der Dämpfung der Cellulose zeigt auf, dass eine Optimierung der Herstellung von transparenten Cellulosefilamenten zu kommerziell nutzbaren Lichtwellenleiterstrukturen führen könnte. Hierbei können marktreife Fasern entstehen, die fossil-basierte optische Fasern mittel bis langfristig substituieren könnten.

Die Herstellung von Cellulosesphären im Nanometerbereich muss noch weiter optimiert werden. Es konnte gezeigt werden, dass die Erzeugung von nanoskaligen Cellulose-Kugeln mit allen durchgeführten Ansätzen möglich ist. Die Herausforderung hierbei ist nicht nur die Herstellung von engen Größenverteilungen, sondern vor allem auch die Produktion von großen Mengen.

Die Rekonstruktion der Materialarchitektur des Gießkannenschwamms *Euplectella aspergillum* ist möglich. Die verstärkten Wechselwirkungen der Nanopartikel erschweren hierbei die Anordnung zu definierten Strukturen. Durch die Produktion von größeren Mengen an Nanopartikeln könnte die Herstellung der bionischen Lichtwellenleiterstruktur weiter optimiert werden, so dass zukünftig aktive Lichtleiteigenschaften nachgewiesen werden könnten. Die Herstellung und Entwicklung solcher bionischer Lichtwellenleiterstrukturen sind jedoch mit einem entsprechend hohen Aufwand und auch hohen Kosten verbunden.

Das größte Potential besitzen somit die konventionellen Cellulose-basierten Fasern. Die in diesem Projekt hergestellten optischen Fasern könnten jetzt schon in den medizinischen Bereichen der optogenetischen Stimulation und in der photodynamischen Therapie eingesetzt werden. Man könnte hierbei die industrielle Infrastruktur zur Herstellung von Viskosefasern nutzen. Die entsprechenden Nassspinnanlagen könnten ohne hohe Kosten nach dem aufgezeigten Verfahren angepasst werden. Dadurch könnten Cellulose-basierte optische Fasern für den kommerziellen Gebrauch hergestellt werden. Die Verwendung von industriellen Anlagen würde auch zu einer Verbesserung der Qualität der Fasern und der Lichtleitung führen.

Literaturverzeichnis

- [1] P. Kröplin et al., in *Polymer Optical Fibres*, 1. Auflage (Eds: C.-A. Bunge, T. Gries, M. Beckers), Woodhead publishing, Duxford, Großbritannien **2017**.
- [2] W. Daum et al., in *POF-Optische Polymerfasern für die Datenkommunikation*, 1. Auflage, Springer Verlag Berlin Heidelberg, Deutschland **2001**.
- [3] O. Polishuk, *IEEE Commun. Mag.* **2006**, *44*, 140.
- [4] J. Aizenberg et al., *PNAS*, **2004**, *101*, 3358.
- [5] K. Rahn et al., *Die Angewandte Makromolekulare Chemie*, **1996**, *238*, 143.
- [6] W. Weiku et al., *Cellulose*, **2019**, *26*, 3095.
- [7] C. Zhang et al., *J. Phys. Chem. B.*, **2014**, *118*, 9507.]
- [8] M. Reimer et al., *Biomacromolecules*, **2021**, *22*, 3297.
- [9] H. Sadeghifar et al. *BioResources*, **2019**, *14*, 9021.
- [10] J. R. Dorgan et al., *J. Polym. Environ.* **2006**, *14*, 119.
- [11] M. J. Weber in *Handbook of Optical Materials*, 1. Auflage, CRC Press, Florida, USA **2003**.
- [12] N. Sultanova et al., *Acta Phys. Pol.* **2009**, *116*, 585.
- [13] T. Aigner und T. Scheibel, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11*, 15290.
- [14] G. Perotto et al., *Appl. Phys. Lett.* **2017**, *111*, 103702.
- [15] A. Moraleda et al., *Sensors* **2013**, *13*, 13076.
- [16] Y. Takezawa et al., *J. Appl. Polym. Sci.* **1992**, *46*, 1835.
- [17] M. Rothhammer et al., *Cellulose* **2018**, *25*, 6031.
- [18] H. Li et al., *Biomacromolecules* **2021**, *22*, 4274.

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
A	Absorption
a.u.	Engl. Arbitrary units; willkürliche Einheiten
BioPOF	Biologische polymeroptische Faser
CBD	Cellulosebindungsdomäne
dB	Dezibel
DMAc	Dimethylacetamid
EtOH	Ethanol
FTIR	Fourier-Transform-Infrarot
Gew%	Gewichtsprozent
HFIP	1,1,1,3,3,3-Hexafluorosopropanol
h	Stunde
LiCl	Lithiumchlorid
LiBr	Lithiumbromid
min	Minute
nm	Nanometer
PC	Polycarbonat
PLA	Polylactid, Polymilchsäure
PMMA	Polymethylmethacrylat
POF	Polymeroptische Faser
ppb	Engl. Parts per billion; Teile pro Milliarde
ppm	Engl. Parts per million; Teile pro Million
PS	Polystyrol
RC	Regeneratcellulose
REM	Rasterelektronenmikroskop
T	Transmission
TMM	Transfer-Matrix-Methode
wt%	Engl. weight percent, Massenanteil
XRD	Röntgendiffraktion
λ	Wellenlänge
