

Entwicklung und Charakterisierung photochromer Sicherheitsinkjettinten auf Basis von Bakteriorhodopsin

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

dem

Fachbereich Chemie
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Dipl. Chem. Jens Pudewills

aus Weilburg

Marburg an der Lahn 2009

Vom Fachbereich Chemie
der Philipps-Universität Marburg als Dissertation angenommen am:

Tag der mündlichen Prüfung:

Erstgutachter:	Prof. Dr. N. Hampp
Zweitgutachter:	Prof. Dr. M. Motzkus

*meinen Kindern
Emil und Dorian*

und

*meinen Eltern und Geschwistern
Doris, Ortwin, Nils, Leif, Laila und Ronja*

Der Weg ist nicht das Ziel, sondern der Weg.

Inhalt

1	Einleitung.....	1
2	Bakteriorhodopsin	3
3	Material und Methoden.....	14
3.1	Verwendete Materialien.....	14
3.2	Druckmethoden	16
3.2.1	Inkjetdruck.....	16
3.2.2	Siebdruck	24
3.3	Untersuchungsmethoden	25
3.3.1	Rheologie	25
3.3.2	Oberflächenspannung.....	29
3.3.3	UV-Vis Spektroskopie	30
3.3.4	Reflektionsspektroskopie	31
3.3.5	Farbmessung	32
4	Verwendung von Tensiden in PM-Inkjetttinten	37
4.1	Löslichkeit von Bakteriorhodopsin in Tensiden	39
4.2	Anwendung von Tensiden in PM-Inkjetttinten	42
4.2.1	Verwendung des Tensides Surfynol® CT-291	42
4.2.2	Screening von Tensiden für eine Anwendung in PM-Inkjetttinten	43
4.3	Zusammenfassung.....	53
5	Entwicklung und Herstellung von PM-Inkjetttinten.....	56
5.1	Lösungsmittelverträglichkeit von Bakteriorhodopsin.....	58
5.2	Piezo-Druckkopf.....	61
5.3	Entwicklung von PM-Inkjetttinten.....	63
5.4	Prozessierung der PM-Inkjetttinten	69
5.5	Einflussfaktoren auf die Photochromie von Bakteriorhodopsin	73
5.6	Herstellung vom PM-Inkjetttinten.....	77
5.7	Zusammenfassung.....	92

6	Stabilität von PM-Inkjetdrucken	93
6.1	Wasserechtheit.....	94
6.2	Temperaturstabilität.....	95
6.3	Lichtstabilität	98
6.4	Schaltbarkeit photochromer PM-Druckfarben	111
6.5	Zusammenfassung.....	119
7	Zusammenfassung	120
8	Literatur	122

1 Einleitung

Die Biotechnologie folgt der Zielsetzung, Erkenntnisse aus der Biologie oder Biochemie in technisch nutzbare Elemente umzusetzen. Komplexe funktionelle Bausteine, die auf dem Syntheseweg nicht zugänglich sind, können über die Biotechnologie durch gentechnisch modifizierte Organismen hergestellt werden.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der technischen Nutzung des Membranproteins Bakteriorhodopsin (BR), das in dem Archaeobakterium *Halobacterium salinarum* als lichtgetriebene Protonenpumpe fungiert. Mit dem Protonenpumpmechanismus ist ein Farbwechsel des Proteins von purpur nach gelb verbunden. Durch gentechnische Modifikation konnte in vorangegangenen Arbeiten der Farbwechsel, der im Wildtyp-BR nur einige Millisekunden andauert, zugunsten einer optimalen Photochromie in einen Bereich von Sekunden bis Minuten ausgedehnt werden. Das Protein BR ist durch seine Einbettung in ein zweidimensionales Kristallgitter in Form der Purpurmembra (PM) gegenüber Umwelteinflüssen so stabil, dass es als Protein in Verbindung mit seinen Eigenschaften für technische Anwendungen attraktiv ist.

Ziel dieser Arbeit ist es die Anwendung der PM als photochromes Pigment im Inkjetdruck zu realisieren. Photochrome Pigmente sind vor allem für den Sicherheits- und Wertedruck von Interesse. Produktpiraterie ist ein weit verbreitetes Phänomen, gegen das sich Unternehmen wehren müssen. Die Produktnachahmung hängt von der Kopierbarkeit ab. Um technische Hürden zu schaffen, werden viele Produkte mit sichtbaren und unsichtbaren Sicherheitsmerkmalen ausgestattet. Sichtbare Sicherheitsmerkmale dienen dem Kunden als Erkennungsmerkmal für ein Produkt, während nicht sichtbare, meist forensische Sicherheitsmerkmale, dem Hersteller zur eindeutigen Identifizierung dienen.

Einen Teil der sichtbaren Sicherheitsmerkmale bilden die nur schwer kopierbaren optisch variablen Elemente. Dies können beugungsoptisch wirksame Mikrostrukturen (Hologramme), Materialien mit variablen Reflektionseigenschaften (Kippeffekte) oder optisch variable Farben sein. Photochrome Farben, die bei sichtbarem Licht schalten, kommen trotz des Bedarfes an solchen Spezialfarben bisher noch nicht zum Einsatz. Auf dem Syntheseweg zugängliche Photochrome verfügen nur über eine geringe Zyklizität. BR hingegen ist aufgrund seiner hohen Zyklizität und effizienten Photoreaktion besser als vergleichbare synthetische photochrome Materialien.

PM bietet als Sicherheitspigment nicht nur die Photochromie als sichtbares Sicherheitsmerkmal, sondern kann durch gentechnische Modifikation von nichtfunktionellen Teilen des Proteingerüsts kann es auch als forensisches Sicherheitsmerkmal genutzt werden. Die Herkunft des Materials kann somit eindeutig identifiziert werden.

In vorangegangenen Arbeiten wurden mit dem Pigment PM photochrome Sieb- und Tampondruckfarben entwickelt.^{1,2} Mit diesen Verfahren ist im technischen Maßstab jedoch nur ein geringer Durchsatz zu erreichen, so dass es ein lohnenswertes Ziel darstellt, PM-basierte Inkjetfarben zu entwickeln. Der Inkjetdruck kann als Hochdurchsatzverfahren bei freier Motivwahl problemlos in bestehende Produktionsstraßen z.B. für Verpackungen eingebunden werden. Mit im Labor entwickelten, an eine bestimmte Oberfläche angepassten Inkjettinten, können sehr hohe Stückzahlen erzeugt werden.

Der Druckprozess und die Eigenschaften der Inkjettinten sind derart komplex, dass sie bislang nicht über Modelle berechnet werden können. Die Entwicklung von Inkjettinten ist deshalb in weiten Teilen ein Trial & Error Verfahren. Die technologischen Anforderungen an Inkjettinten sind umfangreicher, als bei anderen Druckmethoden, wodurch die Entwicklung aufwendiger ist, was die technologischen Hürden für Fälscher zusätzlich erhöht.

Die Eigenschaften von Inkjettinten wie Viskosität und Oberflächenspannung müssen sehr genau eingestellt werden. Die Einstellung der Oberflächenspannung erfolgt mit Tensiden, was bei der Verwendung eines Proteins als Pigment ein besonders anspruchsvolles Problem darstellt und im Rahmen dieser Arbeit gelöst wurde. Im Vergleich zu anderen Pigmenten ist die PM sehr instabil. Anorganische Pigmente besitzen die höchste Stabilität und ihre Echtheit wird praktisch nur durch organische Farbzusätze beeinträchtigt. Organische Pigmente weisen zwar geringere Echtheiten auf, finden aber aufgrund ihrer höheren Farbstärke und Buntheit eine breite Verwendung. Mit herkömmlichen Pigmenten ließ sich bisher keine photochrome Anwendung realisieren. Besonders schwierig ist die geringe Stabilität der PM gegen Lösungsmittel, die die Verarbeitbarkeit einschränkt und als anwendungstechnische Eigenschaften ausführlich charakterisiert werden. So wird die PM durch viele im Inkjetdruck üblicherweise eingesetzte Chemikalien denaturiert. Die Möglichkeiten bei der Herstellung von Inkjettinten sind dadurch stark eingeschränkt, weshalb die Entwicklung von PM basierender Inkjettinten eine anspruchsvolle Aufgabe darstellt.

2 Bakteriorhodopsin

Halobacterium salinarum

Bakteriorhodopsin ist ein Membranprotein aus dem *Halobacterium salinarum*.³ Das *Halobacterium salinarum* ist ein halophiles Archaeobakterium, das in natürlichen und künstlichen Salinen sowie in Salzseen vorkommt. Es kann in einer Umgebung mit einer Salzkonzentration bis 4,3 M überleben. Interessanterweise kann es unter aeroben und anaeroben Bedingungen leben, da es nicht nur über einen oxidativen Metabolismus verfügt, sondern auch über die Möglichkeit durch Photosynthese Lichtenergie in chemische Energie umzuwandeln.

Die Photosynthese des *Halobacterium salinarum* unterscheidet sich grundlegend von der der Pflanzen. Die Lichtenergie wird nicht wie bei Pflanzen zur Spaltung von Wasser verwendet, sondern dient zur Generierung eines Protonengradienten über die Zellmembran. Der Transport von Protonen aus der Zelle durch die Zellmembran findet in dem Retinalprotein Bakteriorhodopsin (BR) statt, das bei sinkendem Sauerstoffgehalt vermehrt synthetisiert und in die Zellmembran integriert wird. Der durch den Protonentransport entstehende Protonengradient (bis $\Delta\text{pH} \approx 1.0$) kann zur Synthese von ATP aus ADP genutzt werden. Die ATPase ist ebenfalls membrangebunden.

Neben BR verfügt das *Halobacterium salinarum* über 3 weitere Retinalproteine, die wichtige Funktionen übernehmen: Halorhodopsin und Sensorrhodopsin I und II.⁴

Halorhodopsin nutzt ebenfalls Lichtenergie für einen Transportprozess, transportiert jedoch keine Protonen, sondern Chloridionen. Das Halorhodopsin dient zum Erhalt des osmotischen Gleichgewichtes während der Zellteilung.⁵

Sensorrhodopsin I und II sind Lichtrezeptoren; Sensorrhodopsin I für oranges und UV-Licht und Sensorrhodopsin II für blaues Licht. Die Sensorrhodopsine ermöglichen dem *Halobacterium salinarum* ein phototaktisches Verhalten. BR benötigt zum Protonentransport vor allem grünes bis gelbes Licht, während blaues Licht den Transportprozess behindert. Aufgrund der Sensorrhodopsine kann sich das *Halobacterium* ideal zum Licht ausrichten.⁴

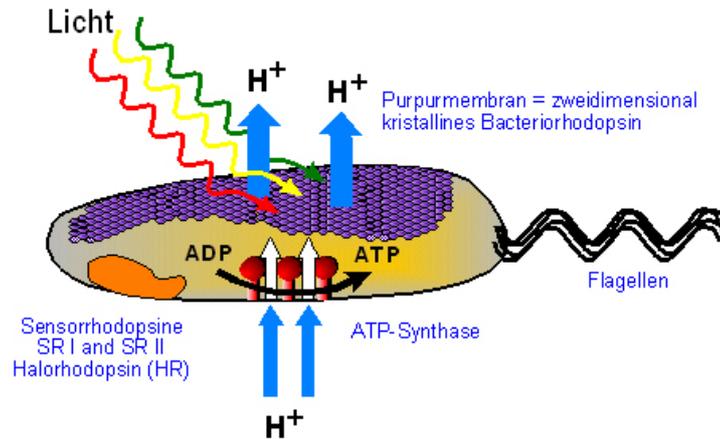


Abbildung 1: Schematische Darstellung des photosynthetischen Energiegewinnungsprozesses im *Halobacterium salinarum*.⁶

Purpurmembran

Das Bacteriorhodopsin ist in zweidimensional-kristallinen Bereichen, Purpurmembranen genannt, in die Membran integriert.

BR bildet in Form von Trimeren mit einem Durchmesser von $4,4 \text{ nm}^7$ in der Purpurmembran (PM) ein zweidimensionales hexagonales Gitter aus. Der Gitterabstand zwischen den in eine Lipidmatrix eingebetteten Trimeren beträgt $6,245 \text{ nm}^8$. Das Verhältnis von BR zu Lipiden beträgt im Gewichtsverhältnis 3:1, im molaren Verhältnis 1:10.⁹ Die PM ist $5,6 \text{ nm}$ dick und die laterale Ausdehnung kann bis zu $5 \text{ }\mu\text{m}$ betragen.

In Abbildung 2 ist die Kristallstruktur der PM in einer AFM-Aufnahme und einem Modell zu sehen.¹⁰

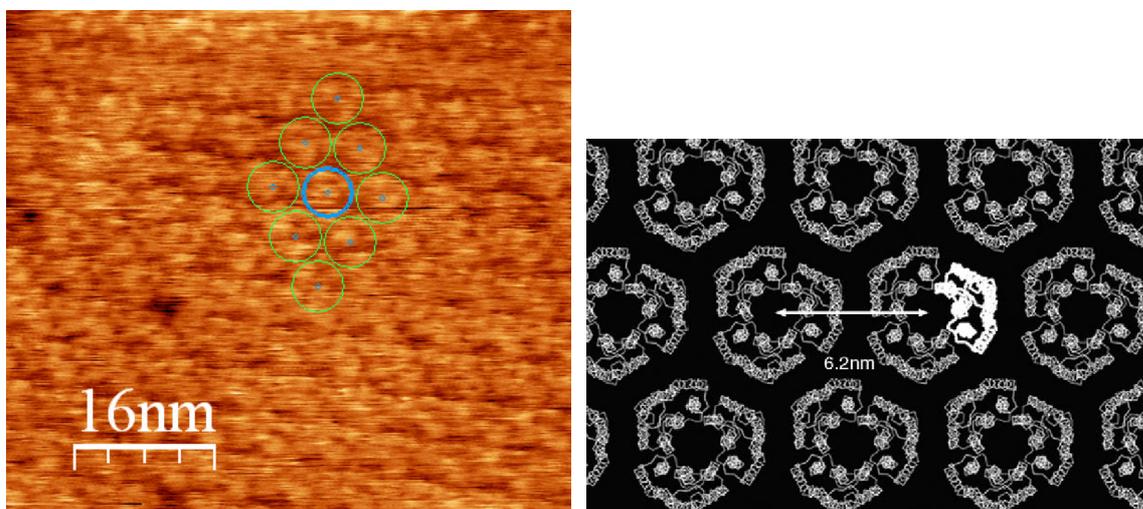


Abbildung 2: Links: AFM-Aufnahme der Purpurmembran mit eingezeichnetem hexagonalem Gitter (Aufnahme von M. Schranz); Rechts: Schema des hexagonalen Gitters der Purpurmembran.¹⁰

BR wird durch umgebende Lipidmoleküle und die kristalline Einbettung extrem stabilisiert. Dies führt zu einer bemerkenswerten Stabilität des Proteins gegenüber physikalisch-chemischen Einflüssen. Seine biologische Funktion, somit seine Farbe und photochemische Aktivität bleiben auch in Gegenwart von Sauerstoff und im trockenen Zustand erhalten. Es ist über einen weiten pH-Bereich (pH 0-12) und in trockenen Schichten bis zu Temperaturen von 140°C stabil.^{11, 12}

Diese für ein proteinbasierendes Material beispiellosen Eigenschaften, prädestinieren BR als Prototypen für die technische Anwendung als funktionelles Biomaterial.

Die PM kann unter anderem, wie in dieser und anderen Arbeiten gezeigt, als Pigment für photochrome Druckfarben eingesetzt werden.¹³

Aufbau von Bakteriorhodopsin

Bakteriorhodopsin ist ein Membranprotein mit einem Molekulargewicht von 26784 Da. Das Proteingerüst von BR besteht aus 248 Aminosäuren, die überwiegend hydrophobe Seitenketten besitzen, in sieben näherungsweise parallelen transmembranen α -Helices (A-G) angeordnet und über Loops verbunden sind. Die Helices bilden zwei Bögen aus; einen inneren mit Helices B, C und D und einen äußeren mit den Helices E, F, G und A. Eine transmembrane Pore wird vorwiegend zwischen den Helices B, C, F und G geformt.^{4, 14} In dieser Pore befindet sich das Chromophor Retinal, das an ein Lysin in der Helix G (Lys-216) über eine Imidbindung (Schiff'sche Base) gebunden ist.

Das Retinal, das ungefähr in der Mitte der Plasmamembran liegt, trennt die Pore in eine cytoplasmatische und eine extrazelluläre Halbpore, die jeweils für die Protonenaufnahme und -abgabe zuständig sind. In der Pore befinden sich Aminosäuren, die für einen effizienten Protonentransport sorgen. Von großer Bedeutung sind hierfür auf der cytoplasmatischen Seite die Aminosäure Aspartat-96 und auf der extrazellulären Aspartat-85.

Das Retinal liegt unter physiologischen Umständen als all-trans oder 13-cis Isomer vor und hat im lichtadaptierten Grundzustand ein Absorptionsmaximum von 570 nm. Es wird im Protein von 3 Tryptophanresten stabilisiert, die Aminosäuren Aspartat-85 und Aspartat-212 dienen als „Gegenion“ zum Imin.

Der Aufbau des BRs ist in Abbildung 3 gezeigt. Die für den Protonentransport wichtigen Aminosäuren, das sich im Protonenkanal befindende Wassermolekül

wat402, dass während des Photozykluses das Proton von der Schiff'schen Base zur Aminosäure Asp-85 überträgt, und das Retinal sind in dieser Darstellung mit eingezeichnet.¹⁵

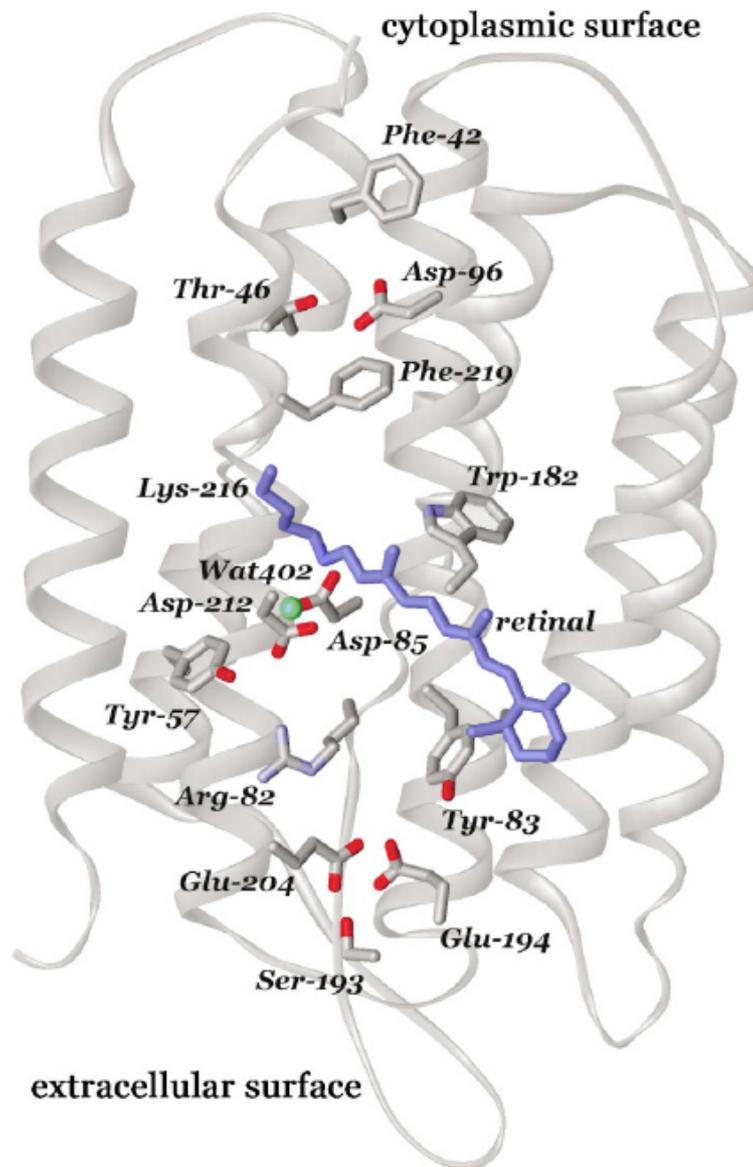


Abbildung 3: Aufbau des BRs mit den für den Protonentransport wichtigsten funktionellen Gruppen.¹⁵

BR wandelt die Energie von „grünem“ Licht (500-650 nm) in einen elektrochemischen Protonengradienten um.¹⁶ BR wirkt dabei wie eine molekulare Maschine, die, durch Lichtenergie angetrieben, Protonen pumpt.¹⁷

Für seine natürliche Funktion ist es wichtig, dass das Absorptionsmaximum des Chromophores Retinal mit dem Absorptionsmaximum der Sonneneinstrahlung möglichst gut übereinstimmt. Freies all-trans-Retinal zeigt in n-Hexan gelöst ein

Absorptionsmaximum bei $\lambda = 370$ nm. Das über die Schiff'sche Base an das Proteingerüst gebundene Retinal zeigt ein Absorptionsmaximum von $\lambda = 570$ nm. Diese bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums wird als Opsinshift bezeichnet. Für die Entstehung des Opsinshifts werden mehrere wahrscheinlich kumulativ wirkende Mechanismen in Betracht gezogen. Hierzu gehören die Geometrie des Retinals, die Protonierung der Schiff'schen Base und elektrostatische Wechselwirkungen mit der Umgebung. Houjou et al.¹⁸ führt den Opsinshift hauptsächlich auf einen polarisierenden Effekt der umgebenden Proteinmatrix zurück. In unmittelbarer Nähe zum Retinal befinden sich gehäuft aromatische Seitengruppen. Diese aromatischen Seitengruppen wirken als dielektrisches Medium mit einem hohen Brechungsindex. Bei Mutanten ohne diese aromatischen Gruppen nimmt der Opsinshift ab.

Das Retinal wirkt durch seinen photosensitiven Charakter als lichtgetriebener Schalter zwischen den beiden Halbporen. Das π -Elektronensystem des Retinals reagiert unter Einstrahlung eines Photons geeigneter Wellenlänge mit Photoisomerisierung von der all-*trans*-Konformation in die 13-*cis*,15-*anti*- Konformation.

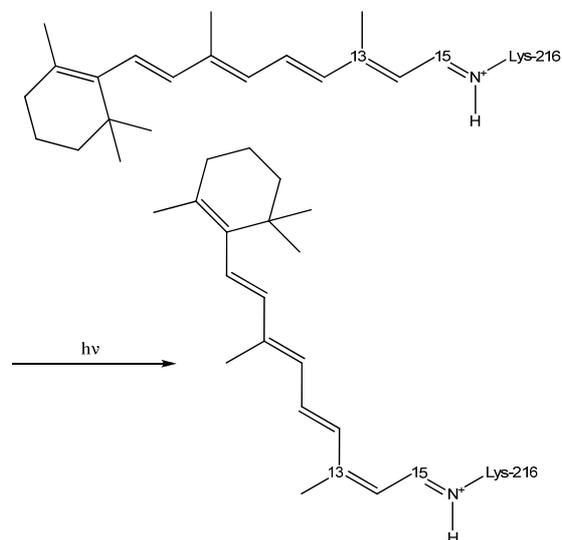


Abbildung 4: Isomerisierung des Retinals.

Photozyklus von Bakteriorhodopsin

Der Protonentransport ist an einen Mechanismus mit einer Reihe von spektroskopisch unterscheidbaren Zuständen gekoppelt, dem so genannten Photozyklus des Bakteriorhodopsins. Das allgemein akzeptierte Modell des Photozyklus geht auf G. VARO und J. K. LANYI zurück.¹⁹

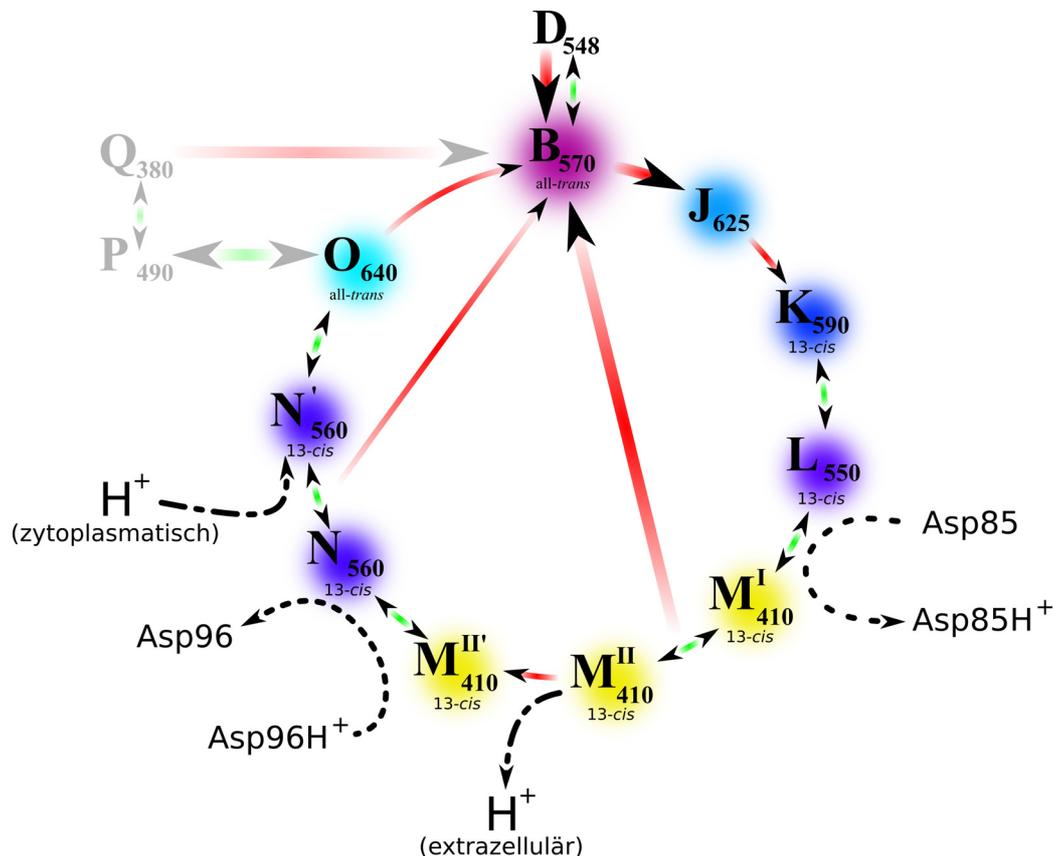


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Photozyklus von BR (erstellt von R. P. BAUMANN²⁰).

In Großbuchstaben sind die verschiedenen spektroskopischen Zustände des Photozyklus angegeben, als Index das Absorptionsmaximum des jeweiligen Zustandes. Es treten photochemische und thermische Schritte im Photozyklus auf; die photochemischen sind mit dicken und die thermischen mit dünnen Pfeilen versehen. Reversible Schritte sind in grün und irreversible in rot gezeichnet.

Die Zuordnung des Photozyklus erfolgt anhand von Änderungen im sichtbaren Spektrum. Die Strukturen der einzelnen Photointermediate sind durch Elektronenmikroskopie und Röntgenstrukturanalyse, Festkörper-NMR, Neutronenbeugung, IR- und Ramanspektroskopie detailliert aufgeklärt worden.^{21, 22, 23} Jedem Schritt des Photozyklus ist so ein physikalisches Ereignis zuordbar.

- $B_{570} \rightarrow D_{548}$: Der D_{548} -Zustand wird als Dunkeladaption bezeichnet. Wird BR unter Lichtausschluss aufbewahrt, so stellt sich ein Gleichgewicht zwischen B_{570} und D_{548} ein. Im B_{570} -Zustand liegt das Retinal in all-trans-Konfiguration vor, im D_{548} -Zustand in 13-cis-Konfiguration. Die Lage des Gleichgewichtes hängt von der Temperatur und dem pH-Wert ab.^{24, 25}
- D_{548} verfügt wie auch B_{570} über einen Photozyklus, jedoch ist nur der Photozyklus des B_{570} mit einem Protonentransport verbunden. Nach Breitbandbelichtung liegt BR zu 98% im helladaptierten Zustand B_{570} vor und der dunkeladaptierte Zustand kann vernachlässigt werden.²⁶
- $B_{570} \rightarrow J_{625}$: Die Absorption eines Photons bewirkt die Photoisomerisierung des an Lys-216 gebundenen Retinals von der all-trans in die 13-cis-,15-anti Konformation. Die Quanteneffizienz dieser Reaktion liegt bei 64%. Der Mechanismus des ersten Schrittes im Photozyklus, der sich über einen elektronisch angeregten Zustand im Femtosekundenbereich abspielt, ist noch nicht vollständig geklärt. In der Literatur werden ein Zwei- und ein Dreizustandsmodell diskutiert.¹⁶
- Durch die Isomerisierung wird die Protonenaffinität verschiedener Aminosäurefunktionen verändert und der schrittweise ablaufende Protonentransport wird eingeleitet.²⁷
- $J_{620} \rightarrow K_{590}$: Innerhalb von 5 ps erfolgt die thermische Relaxation in den K_{590} -Zustand. Das Retinal liegt in diesem Zustand in einer hoch gespannten 13-cis,15-anti Konformation vor.
- $K_{590} \rightarrow L_{550}$: Innerhalb von 1 μ s wird der L_{550} -Zustand gebildet. Es findet eine Reorganisation des Proteins statt. Es kommt zu Umlagerungen der Wasserstoffbrückenbindungen, der Proteingruppen und des gebundenen Wassers. Die Protonierung von Asp-85 und die Deprotonierung der Schiff'schen Base ist vorbereitet.
- $L_{550} \rightarrow M_{410}^I$: Nach ca. 50 μ s verschiebt sich das Proton der Schiff'schen Base über das Wassermolekül wat402 zu Asp-85. Durch die Deprotonierung der

Schiff'schen Base verändert sich die Elektronenstruktur des Retinals, was zu einer starken hypsochromen Verschiebung zu 410 nm führt.

$M_{410}^I \rightarrow M_{410}^{II}$: Die verschiedenen M-Zustände sind spektroskopisch nicht unterscheidbar. Durch Beugungsexperimente wurden unterschiedliche Konformationen des Proteins festgestellt, anhand derer die M-Zustände unterschieden werden.
Von M_{410}^I nach M_{410}^{II} wird die Schiff'sche Base von der extrazellulären Seite der Membran getrennt und mit der cytoplasmatische Seite verbunden. Damit verbunden ist ein Ausschwingen der Helix F, was zu einer Verengung des Protonenkanals zur extrazellulären Seite und einer Aufweitung zur cytoplasmatischen Seite führt.^{17, 28}
Die Reprotonierung von der extrazellulären Seite wird so blockiert und die von der cytoplasmatischen Seite ermöglicht.

$M_{410}^{II} \rightarrow M_{410}^{III}$: Ein Proton wird vom so genannten „proton release complex“, an dem die Aminosäuren Arg-82, Glu-194 und Glu-204 beteiligt sind, in die extrazelluläre Umgebung abgegeben.

$M_{410}^{III} \rightarrow N_{560}$: Die Schiff'sche Base wird durch Asp-96 innerhalb einiger Millisekunden reprotoniert.

$N_{560} \rightarrow N'_{560}$: Ein Proton wird von Asp-96 durch die cytoplasmatische Seite aufgenommen.

$N'_{560} \rightarrow O_{640}$: Das Retinal kehrt in den all-*trans*-Grundzustand zurück.

$O_{640} \rightarrow B_{570}$: Asp-85 gibt das Proton an den „proton release complex“ wieder ab und das Protein kehrt in den Ausgangszustand zurück.

In der folgenden Abbildung sind die während des Photozyklus ablaufenden Schritte des Protonentransportes anhand der Struktur von BR dargestellt.

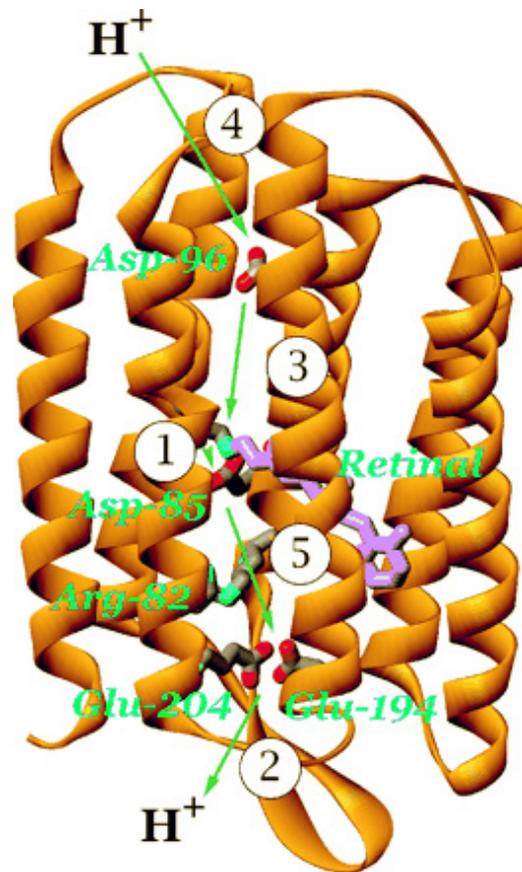


Abbildung 6: Struktur von BR mit Retinal (lila), mit eingezeichnet ist der schrittweise ablaufende Protonentransport.²⁷

1. Die Schiff'sche Base wird deprotoniert und das Proton von Asp-85 aufgenommen.
2. Ein Proton wird zur extrazellulären Seite vom „proton release complex“ abgegeben.
3. Die Schiff'sche Base wird durch ein Proton von Asp-96 reprotoniert.
4. Asp-96 wird durch ein Proton von der cytoplasmatischen Seite protoniert.
5. Asp-85 gibt das Proton an den „proton release complex“ ab.

Photochromie von Bakteriorhodopsin

Mit dem Photozyklus des BRs ist ein Farbwechsel von purpur nach gelb verbunden. Mit dem Erreichen des M-Zustandes und der Weitergabe des Protons von der Schiff'schen Base an die Aminosäure Asp-85 verschiebt sich das Absorptionsmaximum des BRs von 570 nm nach 410 nm. Wird die Schiff'sche Base durch die Aminosäure Asp-96 wieder reprotoniert, verschiebt sich das Absorptionsmaximum wieder bathochrom. Die reversible Farbänderung einer chemischen Spezies bei Belichtung zwischen zwei Formen A und B wird als Photochromie bezeichnet.

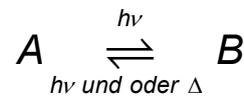


Abbildung 7: Schema der Photochromie

Die thermodynamisch stabilere Form A wird durch Bestrahlung in die Form B überführt, die thermisch oder photochemisch wieder in den Ausgangszustand A zurückkehrt.

Der Photozyklus des natürlichen Bakteriorhodopsins und der damit verbundene Farbwechsel laufen im Bereich von Millisekunden ab. Durch Veränderung verschiedener Faktoren (Kapitel 5.5) kann die thermische Relaxation des M-Zustandes in den B-Zustand erheblich verlangsamt werden. Seitdem es gentechnisch gelungen ist die Aminosäure Asp-96 durch Asparagin zu ersetzen, steht mit der Mutante D₉₆N ein Material mit einer längeren Lebensdauer des M-Zustandes zur Verfügung. Durch die Mutation wird die Protonenaufnahme über den CP-Kanal gehemmt und die Reprotonierung der Schiff'schen Base verzögert. Bei geeigneten Bedingungen kann die Lebensdauer des M-Zustandes bei dieser Mutante mehrere Minuten andauern.

Bei der Betrachtung des BRs als photochromes Material können die übrigen Intermediate des Photozykluses vernachlässigt werden. Der B-Zustand ist der Grundzustand und der M-Zustand der angeregte Zustand, somit ergibt sich folgender vereinfachte Photozyklus:

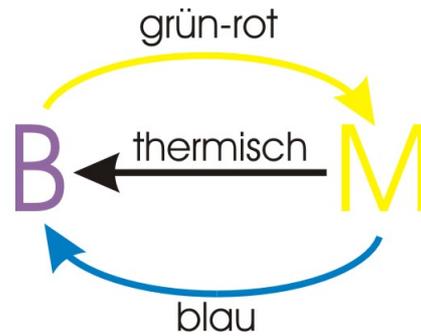


Abbildung 8: Vereinfachter Photozyklus von BR.

Wird BR mit gelbem Licht $\lambda_{\max} = 570 \text{ nm}$ bestrahlt, so kommt es mit einer Quanteneffizienz von 64% zur Anregung des M-Zustandes und einem Farbwechsel von purpur nach gelb. Je nach Einstellung der Protonenverfügbarkeit kehrt der angeregte Zustand im Zeitraum von Sekunden bis Minuten thermisch in den Grundzustand zurück. Durch Bestrahlung mit blauem Licht $\lambda_{\max} = 410 \text{ nm}$ kann der Grundzustand auch auf photochemischem Wege erreicht werden.

3 Material und Methoden

3.1 Verwendete Materialien

Bakteriorhodopsin

Das in der vorliegenden Arbeit verwendete Bakteriorhodopsin wurde als Purpurmembran (PM), d.h. in membranintegrierter Form, eingesetzt.

Verwendet wurde nur die gentechnische Mutante D₉₆N, die sich durch eine längere Lebensdauer des M-Zustandes auszeichnet. Sie wurden von der Arbeitsgruppe Prof. OESTERHELT (MPI für Biochemie, Martinsried), sowie der Firma Actilor (Leuna) (ehemals MIB, Marburg) nach Standardprozeduren²⁹ hergestellt und in Form von wässrigen Suspensionen zur Verfügung gestellt.

Zur Isolation der Purpurmembranfragmente aus dem *Halobacterium salinarum* wird nach osmotischem Schock die Zellmasse zunächst mit Desoxynuclease behandelt und durch Dialyse und Zentrifugation in ihre Bestandteile zerlegt. Das hierdurch gewonnene Material wird als „PM_{crude}“ bezeichnet und enthält neben der PM unter anderem die so genannte rote Membran, die durch Einlagerung von Carotinoiden in die Membran charakterisiert ist.³⁰ Dieser Typ PM verfügt aufgrund der nicht photochromen roten Membran über einen verminderten Gamut im Farbraum und ist deshalb nicht für die Anwendung als Farbpigment geeignet. Durch Optimierung der Bedingungen gelang es die Entstehung der roten Membran während der Zucht zu minimieren. Dieser weitgehend von roter Membran freie Typ wird als „PM_{technisch}“ bezeichnet.

Durch Aufreinigung mittels Dichtegradientenzentrifugation wird „PM_{rein}“ gewonnen. Hierzu wird mit Hilfe eines Gradientenmischers ein Zuckergradient aus 7 mL 30%iger und 4 mL 45%iger Saccharoselösung hergestellt. Die Proben werden auf den Zuckergradienten geschichtet und in einer Ultrazentrifuge vom Typ Centrikon T-1080 (Kontron Instruments jetzt Thermo Scientific, Dreieich) zentrifugiert. Die Zentrifugation erfolgt mit 28.000 rpm und 4°C für 19 h.

In dieser Arbeit wurde für spektroskopische Untersuchungen PM_{rein} und für die Herstellung von Tinten PM_{technisch} verwendet. Teilweise erfolgte der Einsatz von PM_{technisch} als getrockneter Feststoff, der durch Gefriertrocknung hergestellt wird. Zur Gefriertrocknung wird die Suspension durch einen 5 µm Nylon-Spritzenfilter vom Typ Cameo 30N (Osmonics, Minnetonka, USA) filtriert, in einem Rundkolben unter Umschwenken in flüssigem Stickstoff tiefgefroren und die flüchtige Phase unter

vermindertem Druck an einer Gefriertrocknungsanlage vom Typ Alpha 2-4 (Christ, Osterode am Harz) absublimiert.

Meist wurde $PM_{\text{technisch}}$ für die Herstellung von Inkjettinten als konzentrierte Suspension eingesetzt. Die Aufkonzentration der von der Arbeitsgruppe Prof. OESTERHELT bereitgestellten Suspensionen erfolgte durch zweimalige Zentrifugation bei 10.000 rpm, 1 h mit der Sorvall-Zentrifuge (Thermo Scientific, Dreieich). Es konnten Suspensionen mit einer OD von 90-110 gewonnen werden. Die Angabe der OD wird rechnerisch aus einer Verdünnung auf cirka OD 1 nach LAMBERT-BEER ermittelt und dient der Konzentrationsangabe. Vereinfacht kann die Masse M an PM in einer konzentrierten Suspension über folgende Formel mit der Konzentration einer PM-Suspension bei OD 1 (0,56957 g/L), der aus der Verdünnung ermittelten optische Dichte OD , und das Volumen V ermittelt werden:

$$M_{mg} = OD \cdot V_{mL} \cdot 0,56957 \quad (1)$$

Die Berechnung der PM-Konzentration bei einer OD 1 erfolgte unter der Annahme, dass das BR-Lipid-Massenverhältnis 3:1 beträgt. Die Abweichung von der Formel beträgt 4%, bestimmt durch Gefriertrocknung einer BR-Suspension OD 91.

Als Suspension wurde die PM bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Gefrierschrank langzeitgelagert. In trockener Form kann die PM bei Raumtemperatur gelagert werden.

BR-Beschichtungen wurden vor Messungen generell lichtadaptiert. Dies erfolgte mit einem Diaprojektor (150 Halogenlampe) oder durch 30 minütige Belichtung unter zwei 60 W Glühlampen.

Chemikalien

Soweit nicht anders beschrieben wurden Chemikalien von den Firmen Acros (Geel, B) und Sigma/Aldrich/Fluka (Taufkirchen) bezogen und ohne weitere Reinigung eingesetzt. Die UV-Schutzmittel und UV-Initiatoren waren Chemikalienspenden der Firma CIBA, die zur UV-Polymerisation eingesetzten Polymere wurden teilweise von der Firma Sartomer zur Verfügung gestellt.

Entmineralisiertes Wasser für das Ansetzen von PM-Suspensionen und Herstellen von Farben wurde aus einer Reinstwasseranlage (TKA, Niederelbert) entnommen.

3.2 Druckmethoden

3.2.1 Inkjetdruck

Der Inkjetdruck ist eine Non-Impact-Drucktechnologie, d.h. die Druckeinrichtung und das Medium kommen nicht miteinander in Kontakt. Zur Erzeugung eines Bildes werden feine Tröpfchen einer Flüssigkeit elektronisch gesteuert aus Düsen ausgestoßen. Durch das pixelweise Auftreffen der Tropfen auf die zu bedruckende Oberfläche, meist Papier, entsteht ein Rasterbild. Es wird zwischen zwei Geräteklassen unterschieden, Continuous-Inkjet (kontinuierlicher Tintenstrahl) und Drop-on-Demand-Inkjet (Tropfen werden nach Bedarf erzeugt).

Die Auflösung des Rasterbildes ist durch die Größe der Tropfen, die zwischen 25 und 100 μm (10 pL - 0.5 nL) variieren kann, begrenzt. Das Raster ist wegen der geringen Größe der Tropfen meist so klein, dass es unter dem Auflösungsvermögen des Auges liegt. Die Tröpfchen können mit einer sehr hohen Rate erzeugt werden: Drop-on-Demand 0-4000 /s, Continuous-Inkjet 1 MHz.

Die Tinte muss beim Inkjetdruck sehr gut auf die Eigenschaften des zu bedruckenden Mediums abgestimmt sein. Dies ist vor allem bei Papier schwierig und das Druckergebnis hängt stark von der Qualität des Papiers ab. Für brillante Foto- oder Farbausdrucke werden deshalb speziell beschichtete Papiere benötigt. Für den Office-Print Bereich ist es von Nachteil, dass Farbtinten zu einem sehr hohen Preis verkauft werden, kommt die Verwendung von Spezialpapieren hinzu, so sind die Druckkosten für einen Inkjetdruck im Home- oder Office-Bereich relativ hoch.

Die Farbbrillanz von Inkjetdrucken ist der von anderen Druckmethoden durch die Verwendung wasserlöslicher Farbstoffe überlegen. Wegen der geringen Stabilität und Lichtechtheit der Farbstoffe werden Inkjettinten mittlerweile Pigmente zugesetzt.³¹

Bei der Entwicklung von Inkjettinten müssen drei Elemente optimal aufeinander abgestimmt werden: Tinte, Medium und die verwendete Inkjet-Druckmethode.

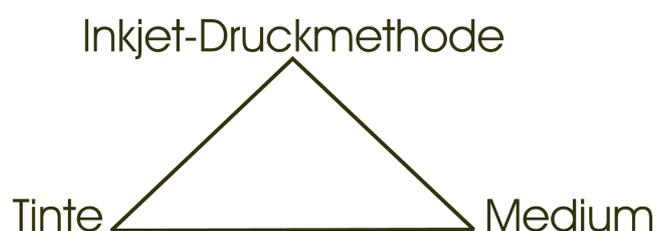


Abbildung 9: Techniktriumvirat der Inkjettechnologie.³²

Druckmethode

Beim Continuous-Inkjet wird mit sehr hoher Frequenz ein kontinuierlicher Strahl an Tropfen und beim Drop-on-Demand-Inkjet werden Tropfen nach Bedarf erzeugt.

Diese beiden Oberklassen unterteilen sich in weitere Unterklassen, bei denen es wiederum verschiedene technische Umsetzungen gibt.

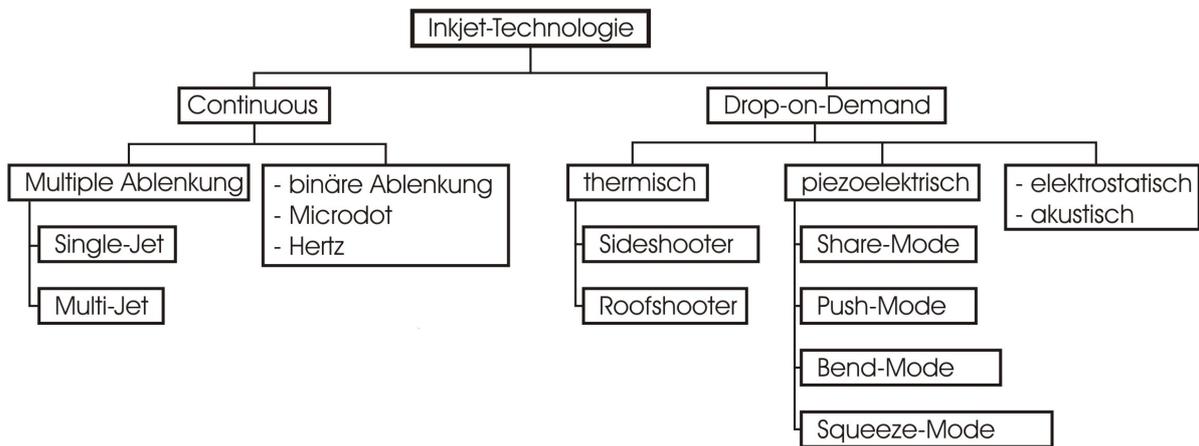


Abbildung 10: Einordnung der verschiedenen Druckmethoden im Inkjetdruck.³³

Beim Continuous-Inkjet wird ein unter hohem Druck kontinuierlich erzeugter Tintenstrahl durch einen pulsierenden piezoelektrischen Wandler in gleich große Tropfen aufgeteilt. Die Tropfen, die nicht auf das Papier auftreffen sollen, werden durch eine Ladeelektrode elektrisch aufgeladen und durch eine nachgeschaltete Ablenkelektrode in eine Auffangrinne gesteuert, von der sie in den Tintenbehälter zurückgeführt werden. Zur Positionierung der Tropfen wird der Druckkopf relativ zum Papier bewegt.

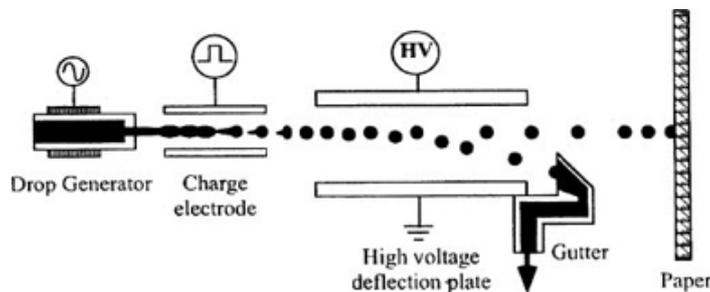


Abbildung 11: Aufbau eines Continuous-Inkjet Druckers.³³

Mit dieser Methode sind Tinten, Lacke und Kleber verdruckbar. Durch diese Vielzahl an verdruckbaren Substanzen können nahezu beliebig viele Oberflächen bedruckt werden. Die Technologie ist jedoch sehr komplex, was sich in einem hohen Gerätepreis niederschlägt, weshalb der Continuous-Inkjet nur im industriellen Bereich

zum Drucken von Barcodes und Haltbarkeitsdaten auf Verpackungen und Lebensmitteln eine Anwendung findet.

Beim Drop-on-Demand-Inkjet, der hauptsächlich im Home- oder Office-Printbereich eingesetzt wird, werden Tintentropfen nur ausgestoßen, wenn das Substrat auch bedruckt werden soll. Mit dieser Methode können auf Spezialpapier Drucke erzeugt werden, die an eine Fotoqualität heranreichen.

Der Druckimpuls zum Ausstoßen der Tinte erfolgt bei allen kommerziell vertriebenen Geräten über Thermoelemente oder piezoelektrische Wandler. Eine akustische oder elektrostatische Erzeugung des Druckimpulses kommt kommerziell nicht zur Anwendung.

Beim Thermoinkjet befinden sich in unmittelbarer Nähe zu den Düsen Heizelemente. Durch kurzes Aufheizen wird Tinte an den Heizelementen zum Verdampfen gebracht und die schnelle Volumenvergrößerung bewirkt einen Druckimpuls, der Tinte aus der Düse ausstößt. Beim Kondensieren des Gases wird durch die Volumenverkleinerung neue Tinte angesaugt.

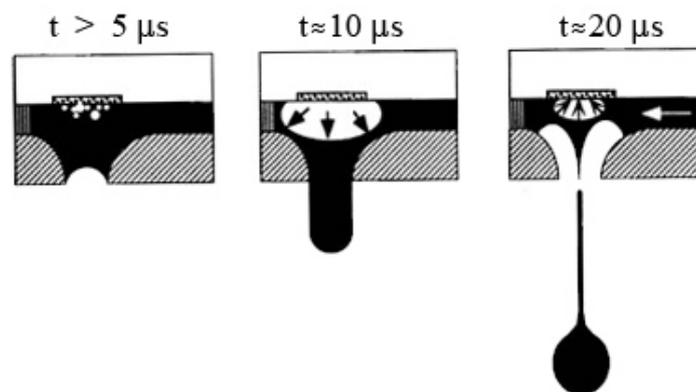


Abbildung 12: Ablauf des Druckvorganges beim Thermoinkjet.³³

Die Anwendbarkeit des Thermoinkjets ist auf wasserbasierende Tinten mit thermisch stabilen Inhaltsstoffen beschränkt. Des Weiteren sind die Thermoelemente einer hohen Belastung (bis 400°C) ausgesetzt und deswegen anfällig für Korrosionsprozesse. In kommerziell vertriebenen Geräten (HP, Lexmark, Kodak und Canon) ist deswegen der Druckkopf als Verschleißteil konzipiert und wird mit der Tintenpatrone ausgetauscht.

Beim Piezoinkjet befinden sich im Tintenkanal Piezoelemente. Diese elektromechanischen Wandler, die scheiben- oder stäbchenförmig sein können,

verformen sich bei einem Spannungsimpuls. Durch den daraus resultierenden Druckimpuls kommt es zum Ausstoß eines Tropfens aus der Düse. Mit dieser für die Tinte schonendere Methode können eine Vielzahl von Materialien, wie zum Beispiel biologische Proben, biomedizinische Reagenzien, flüssige Metalle oder optische Polymere, gedruckt werden. Für den Homeprintbereich werden lediglich von Epson kommerzielle Piezoinjektoren vertrieben.

Die Umsetzung des Piezoinjektors erfolgt von Hersteller zu Hersteller unterschiedlich. Je nach Form und Position der Piezoelemente wird zwischen Share-Mode, Bend-Mode, Push-Mode und Squeeze-Mode unterschieden. Das in dieser Arbeit verwendete Drucksystem Apollo II (Nova / Spectra, Lebanon, NH) mit dem Druckkopf Spectra® Nova PH 256/80 AAA arbeitet nach dem Share-Mode Prinzip.³⁴ Beim Share-Mode wird der Druckimpuls durch plattenförmige Piezoelemente erzeugt. In Abbildung 13 ist der Ablauf des Druckvorganges beim Piezoinjekt im Share-Mode gezeigt. Wird das Piezoelement elektrisch angeregt, so dehnt es sich nach außen aus und der Tintenkanal füllt sich mit zusätzlicher Farbe. Beim Abfall des elektrischen Spannungsimpulses relaxiert das Piezoelement und die Tinte wird durch die Düse aus dem Tintenkanal gepresst. Ab einem bestimmten herausgepressten Volumen kommt es abhängig von der Oberflächenspannung und Viskosität der Tinte zum Tropfenabriss. Ein großes Problem bei diesem Verfahren sind Luftblasen, die die Düsen des Druckkopfes verstopfen können und sich nur schwer entfernen lassen.

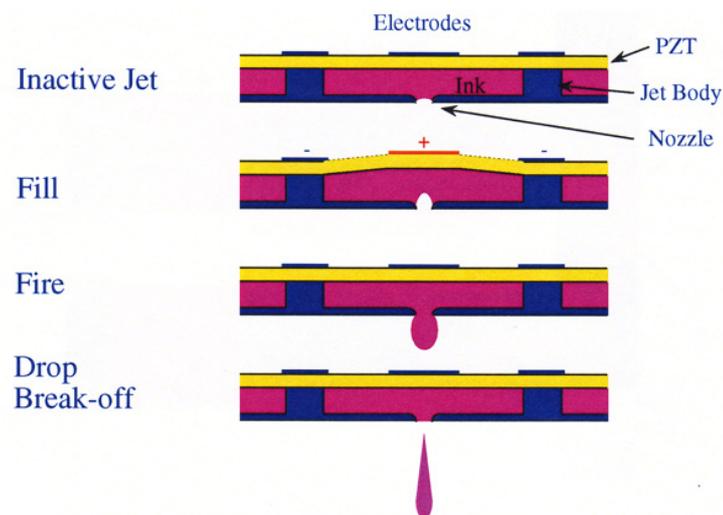


Abbildung 13: Ablauf des Druckvorganges beim Piezoinjekt im Share Mode.³⁵

Medium

Am häufigsten wird per Inkjetdruck Papier bedruckt. Papier besteht zum größten Teil aus Zellstoff. Zellstoff ist der Träger und diesem werden Füllstoffe wie Marmor, Kreide oder gefälltes Calciumcarbonat zugesetzt. Diese erhöhen die Opazität (Lichtundurchlässigkeit) und verbessern die Oberflächenglätte und Bedruckbarkeit. Außerdem werden Leimstoffe zugesetzt, um die Sauffähigkeit des Papiers zu verringern und das Auslaufen von Farben zu verhindern. Jeder Papierhersteller arbeitet nach unterschiedlichen Rezepten, wodurch sich Papier von Papier unterscheidet. Deswegen und wegen der groben Struktur von normalem, unbehandeltem Papier ist das Bedrucken von Papier eine herausfordernde Anwendung für den Inkjetdruck. Die grobe Struktur von Papier ist in der LSM-Aufnahme in Abbildung 14 zu sehen.

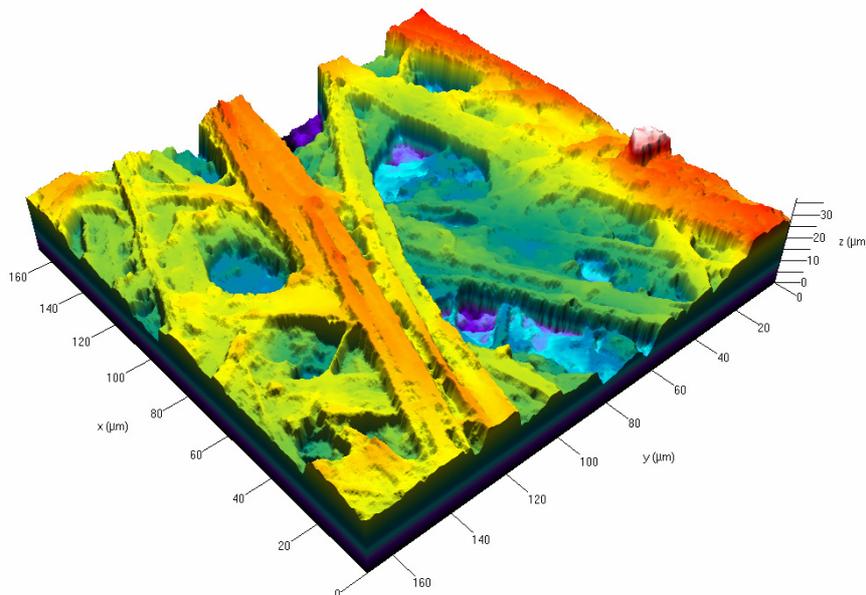


Abbildung 14: LSM-Aufnahme eines handelsüblichen Kopierpapiers.

Tinte neigt auf normalem Papier dazu sich ungleichmäßig zu verteilen, wodurch ein ausgefranstes Schriftbild entsteht. Weiterhin wirken Drucke durch die unterschiedliche Eindringtiefe der Tinte häufig fleckig und durch unterschiedliche Reflektion von Licht an der unebenen Oberfläche des Papiers schnell matt. Normales Papier ist nur begrenzt fähig Flüssigkeit aufzunehmen, so dass sich bei zu hohem Tintenauftrag das Papier wellt. Diese Effekte werden durch verschiedene Tintenzusätze verringert werden. In dieser Arbeit wurde dennoch auf unbehandeltem (normalem) Papier gedruckt, da es weniger Zusatzstoffe enthält, die Messergebnisse verfälschen können.

Zum Erzeugen von hochwertigen Drucken müssen Spezialpapiere eingesetzt werden. Je nach benötigter Qualität können gestrichene (beschichtete) Papiere, Glossypapier oder Fotopapiere verwendet werden. Auf gestrichene Papiere wird eine Schicht aufgetragen, die ein Verlaufen von Tintentropfen verringert und einen konturenstarkes Eintrocknen ermöglicht.

Das in dieser Arbeit wegen der besseren Farbdarstellung ebenfalls bedruckte Glossypapier ist mehrfach beschichtet. Es besteht aus einer Empfangsschicht, auf die der Tintentropfen auftrifft, darunter befindet sich die Kapillarschicht aus porösen Materialien, die die Flüssigkeit der Tinte aufnimmt und ein Verlaufen der Tinte vermindert. Unter der Kapillarschicht befindet sich noch eine Sperrschicht, damit keine Tinte in den Papierträger eindringen kann. Glossypapier eignet sich besonders gut für farb- und fotorealistische Drucke, bei denen im Vergleich zum Textdruck die sechs-achtfache Tintenmenge aufgetragen wird.³⁶ Glossypapier eignet sich jedoch nicht für die in Kapitel 6 vorgestellten Messungen, da die Beschichtung sich bei hoher Feuchtigkeit, Temperatur und intensiver Bestrahlung verfärbt.

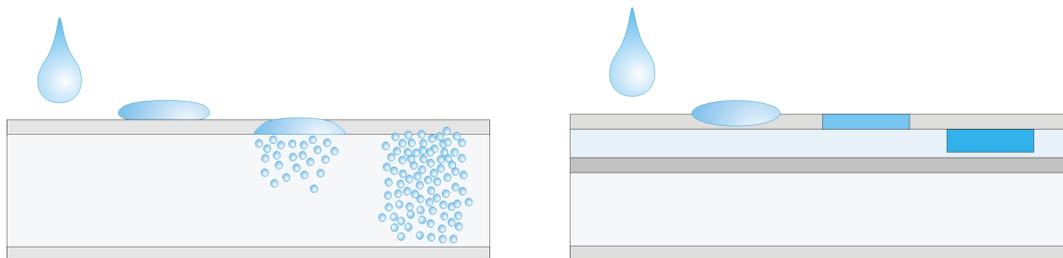


Abbildung 15: Links: Verteilung eines Tropfens auf Papier mit einem Strichauftrag oder einer kalandrierten Oberfläche. Rechts: Verteilung eines Tropfens auf Glossypapier.³⁶

Per Inkjetdruck kann eine Vielzahl von Materialien bedruckt werden. Auf Papier und poröse Materialien können vor allem wässrige Tinten verdruckt werden, da hier die Trocknung auf Absorption beruht. Lösungsmittel basierende Tinten die durch Verdunstung des Lösungsmittels schnell trocknen eignen sich für nicht-poröse Bedruckstoffe wie Kunststoff, Metall oder Glas.

Hot-Melt Tinten auf Wachsbasis können auf porösen und nicht-porösen Bedruckstoffen verdruckt werden. Diese Tinten liegen bei Raumtemperatur als Feststoff vor, werden im Druckkopf erwärmt, flüssig verdruckt und Erstarren beim Auftreffen auf das Medium wieder.

Die Anzahl der bedruckbaren Stoffe steigt durch Neuentwicklungen stetig. In jüngster Zeit werden UV-härtende Tinten auf Öl- oder Wasserbasis für die unterschiedlichsten Zwecke entwickelt.

Tinte

Inkjetttinten müssen eine Vielzahl an Anforderungen erfüllen, weshalb die Herstellung von Inkjetttinten eine komplexe und anspruchsvolle Aufgabe darstellt.

Die Komplexität der Anforderungen an Inkjetttinten ist in der folgenden Abbildung dargestellt.



Abbildung 16: Allgemeine Anforderungen an Inkjetttinten.³⁷

Das Füllen der Druckkanäle und Farbreservoirs im Druckkopf verläuft beim Drop-on-Demand-Inkjet über Kapillarkräfte. Sind Oberflächenspannung und Viskosität einer Tinte nicht korrekt eingestellt, so ist eine Tinte nur schlecht oder nicht verdruckbar. Die Bildqualität und Trocknungszeiten werden auch sehr stark von diesen Parametern beeinflusst. Bei Tinten mit Viskositäten $>35 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ wird von Slow-Dry-Ink und $<35 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ von Fast-Dry-Ink gesprochen.³⁸ Die Oberflächenspannung hat wie auch die Viskosität einen großen Einfluss auf das Eindringverhalten der Tinte in ein

Medium wie Papier. Dringt eine Tinte zu tief in das Papier ein, so verläuft die Tinte entlang der Fasern des Papiers und es entsteht ein ausgefranstes Druckbild.

Einige der Anforderungen an Inkjettinten wirken konträr, so dass ein Mittelweg gefunden werden muss. So dürfen Tinten während Ruhephasen in den Druckerdüsen nicht eintrocknen, gleichzeitig sollte die Tinte, auf dem Bedruckstoff aufgebracht, möglichst schnell trocknen, damit sie nicht verläuft und wischfest ist.

Weiter dürfen Tinten natürlich weder mit dem Druckkopf noch mit sich selbst reagieren und das Wachstum von Mikroorganismen muss ausgeschlossen werden.

Über verschiedene Zusatzstoffe können die Eigenschaften einer Tinte beeinflusst werden. Von vielen Zusatzstoffen ist bekannt, welche Eigenschaften der Tinte sie hauptsächlich, aber nicht, wie sie die Tinte insgesamt verändern. Die Entwicklung von Inkjettinte ist aufgrund der vielen auftretenden Effekte ein Try- and Error-Verfahren, dessen empirischer Charakter sich in einer großen Anzahl an Patenten niederschlägt.

3.2.2 Siebdruck

Die Entwicklung von Inkjettinten ist sehr materialintensiv. Für einen Druckversuch müssen 20-40 mL Farbe hergestellt werden. Dies ist durch das anfängliche Purgen, bei dem durch Druck Luftblasen aus den Düsen gedrückt werden und durch das hohe Totvolumen des Druckkopfes bedingt. Beim Inkjetdruck selbst wird nur sehr wenig Material aufgetragen.

Um den möglichen Einsatz verschiedener Substanzen zu testen wurden diese so weit wie möglich in eine bestehende Rezeptur¹ für den Siebdruck eingetragen. Beim Siebdruck können Farben mit sehr geringem Volumen (0,5 g) und deswegen mit geringem Materialverbrauch und niedrigeren Kosten hergestellt werden.

Beim Druckvorgang per Siebdruck wird die Druckfarbe mit einem von Hand geführten Rakel durch das siebförmige Gewebe der Druckform (Sieb) gepresst und auf das darunter liegende Medium übertragen. Die Trocknung der Farbe erfolgte bei herkömmlichen Farben durch Verdampfen und bei UV-härtenden Siebdruckfarben durch Bestrahlung mit einer geeigneten UV-Lichtquelle. Die Siebdrucke wurden auf dem Laborgerät des Typs S-30 (Fleischle, Brackenheim) hergestellt. Als Siebgewebe wurde die Größe 120T (45 µm Maschenweite, 34 µm Fadendurchmesser und 16 cm³/m² theoretisches Farbvolumen) verwendet.

3.3 Untersuchungsmethoden

3.3.1 Rheologie

Rheologie ist die Wissenschaft, die sich mit dem Verformungs- und Fließverhalten von Materie unter Einwirkung äußerer Kräfte beschäftigt. Materie ändert durch Einwirkung äußerer Kräfte ihre Morphologie reversibel (Verformen) oder irreversibel (Fließen); die Rheologie untersucht und beschreibt diese Eigenschaften. In vielen Technologien, so auch bei der Druckfarbenentwicklung, ist es notwendig das rheologische Verhalten der verwendeten Materialien zu kennen. Während bei technischen Ansätzen das rheologische Verhalten eines Systems über den gesamten Herstellungsprozess wichtig ist, benötigt man im Labormaßstab für die Verarbeitung nur Kenntnisse über die Rheologie des Endproduktes.

Bei der Rheometrie, der Messung von Fließeigenschaften von Stoffen, wird das Auftreten oder die Änderung der Viskosität unter Einwirken von Druck-, Zug-, Schub- oder Scherspannung beobachtet. Wird eine Probe zwischen zwei Platten geschert, so gibt das Verhältnis zwischen aufgebrachtener Kraft und resultierender Plattengeschwindigkeit Auskunft über die rheologischen Eigenschaften einer Probe. Bei diesem Messprinzip wird die obere Platte mit einer bestimmten Fläche relativ zur unteren Platte durch eine bestimmte Kraft mit einer bestimmten Geschwindigkeit v in einem bestimmten Abstand h bewegt.

Aus der Scherkraft F und der Scherfläche A wird die Schubspannung τ berechnet:

$$\tau = \frac{F}{A} \quad (2)$$

Die Schubspannung erzeugt bei flüssigen Proben ein Fließen mit der so genannten Schergeschwindigkeit. Die Schergeschwindigkeit D ist der Quotient aus der Geschwindigkeitsdifferenz dv zwischen der ruhenden und der bewegten Scherfläche und deren Abstand dh :

$$D = \frac{dv}{dh} \quad (3)$$

Im rheologischen Verhalten eines Fluides können verschiedene Eigenschaftsprofile auftreten:

- idealviskoses Fließverhalten
- pseudoplastisches Fließverhalten
- dilatantes Fließverhalten
- thixotropes Fließverhalten
- rheopexes Fließverhalten

Bei idealviskosem Fließverhalten wird die Viskosität nach Newton als Quotient aus Schubspannung und Schergeschwindigkeit beschrieben:

$$\eta = \frac{\tau}{D} \quad (4)$$

Idealviskose Fluide werden deswegen auch als Newton'sche Fluide bezeichnet. Die Scherviskosität ist hier bei konstanter Temperatur unabhängig von der Schergeschwindigkeit und somit eine Materialkonstante.

Viele Stoffe zeigen eine Änderung der Scherviskosität in Abhängigkeit von der Schergeschwindigkeit. Bei diesen als Nicht-Newton'schen Flüssigkeiten bezeichneten Fluiden kann die Scherviskosität mit steigender Scherbelastung ab- oder zunehmen. Man spricht von scherverdünnendem oder scherverdickendem Fließverhalten.

Scherverdünnendes Fließverhalten (Pseudoplastizität) tritt häufig bei Polymeren, Flüssigkristallen und Emulsionen auf. Bei diesen Materialien kommt es durch steigende Scherbelastung zu einer Entschlaufung, Orientierung oder Formveränderung des Materials.

Scherverdickendes Fließverhalten (Dilatanz) tritt weitaus seltener auf. Es kann bei unvernetzten, verzweigten Polymeren oder hochkonzentrierten Suspensionen auftreten.

Wenn die Scherviskosität von der Belastung abhängt, spricht man von scheinbarer Viskosität η_s bei einer bestimmten Schergeschwindigkeit. Welches Viskositätsverhalten auftritt, hängt von der Form von Partikeln oder der molekularen Form der Stoffe ab.

Wenn sich die Viskosität von Materialien bei gleich bleibender Belastung zeitabhängig ändert, so spricht man bei abnehmender Viskosität von einem thixotropen und bei zunehmender von einem rheopexen Verhalten.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Fließverhalten der Inkjetintinen mit einem Kegel-Platte-Rotationsviskosimeter untersucht.

Bei Rotationsviskosimetern führt die bewegte Fläche eine Rotationsbewegung aus. Ein für niedrigviskose Proben gängiges Meßsystem ist ein Kegel-Platte System (Abbildung 17), bei dem die Probe zwischen die untere Platte und einen Messkegel gegeben wird. Über den Radius R , Öffnungswinkel α und die detektierbaren Größen Drehmoment M und Drehzahl n kann die Schubspannung, die Schergeschwindigkeit und die dynamische Viskosität ermittelt werden. Um Materialverschleiß, Eigenreibung und Probleme durch Partikel zu vermeiden ist die Spitze des Kegels üblicherweise abgenommen. Der Kegelabstand a wird so eingestellt, dass die virtuelle Kegelspitze genau in einem einzigen Punkt auf die untere Platte auftreffen würde.

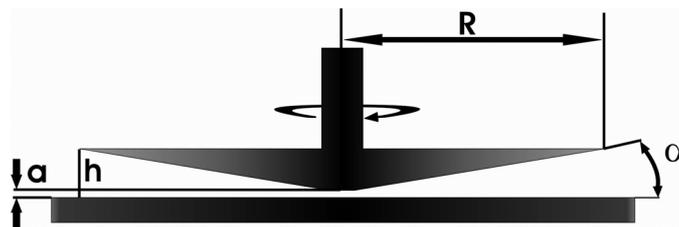


Abbildung 17: Kegel-Platte Messprinzip mit abgenommener Kegelspitze.

Das Kegel-Platten-System hat gegenüber zweier rotierender Platten den Vorteil, dass eine konstante Schergeschwindigkeit über den gesamten Messspalt erzeugt wird.³⁹

Die Scherviskosität wird aus der Schubspannung τ und Schergeschwindigkeit v berechnet:

$$\eta = \frac{\tau}{D} = \frac{3 \cdot M \cdot \alpha}{2\pi \cdot R^3 \cdot \omega} \quad (5)$$

Die Schubspannung im Rotationsviskosimeter ergibt sich aus dem Radius R und dem Drehmoment M :

$$\tau = \frac{3 \cdot M}{2\pi \cdot R^3} \quad (6)$$

Die Schergeschwindigkeit ist durch die Winkelgeschwindigkeit ω und den Tangens des Winkels α zwischen Kegel und Platte gegeben:

$$D = \frac{\omega}{\tan \alpha} \quad (7)$$

Rheologische Messungen wurden mit dem Gerät RC 20 (RheoTec Messtechnik, heute Brookfield Engineering Laboratories, USA) mit einem C75-1 Kegel, Radius 75 mm, Öffnungswinkel 1° und Spitzenabtrag von $50 \mu\text{m}$ durchgeführt. Die Online-Messauswertung erfolgte mit der Software Rheo 2.01. Die Software Rheo 2.01 liefert auf $1 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ gerundete Viskositätswerte. Die Rundung der Viskositätswerte erfolgt, wie in dem Datenfile zu sehen ist, erst bei Berechnung aus der Schubspannung und der Schergeschwindigkeit. Für eine genauere graphische Darstellung wurden die Viskositätswerte über ein eigenes Programm neu berechnet.

3.3.2 Oberflächenspannung

Die Oberflächenspannung der Inkjetinten wurde über die Pendant Drop Methode bestimmt. Die Pendant Drop Methode ist ein optisches Tropfenkontur-analyseverfahren.

Die Form eines hängenden Tropfens wird durch zwei verschiedene Kräfte verursacht. Die Schwerkraft verlängert den Tropfen, während die Oberflächenspannung versucht die Oberfläche möglichst gering zu halten. Durch das Gleichgewicht dieser beiden Kräfte nimmt der Tropfen einer Flüssigkeit im hydrodynamischen Gleichgewicht eine charakteristische Form an. Über die YOUNG-LAPLACE-Gleichung kann das Gleichgewicht dieser Kräfte anhand der Tropfenkontur beschrieben werden.

$$\Delta p = \sigma \cdot \left(\frac{1}{r_1} + \frac{1}{r_2} \right) \quad (8)$$

Δp = Druckdifferenz zwischen Innen- und Außenseite des Tropfens

σ = Grenzflächenspannung

$r_{1,2}$ = Hauptkrümmungsradien eines Flächenausschnittes der Tropfenoberfläche

Die Oberflächenspannungsmessungen wurden mit dem DSA-Gerät (Drop Shape Analysis) G10 von Krüss vorgenommen. Für eine Messung wird eine Hamilton-Spritze (10 mL) mit aufgesetzter Kanüle blasenfrei mit der zu vermessenden Flüssigkeit befüllt und senkrecht in die Spritzenhalterung geklemmt. Der Spritzenkolben wird so lange über eine Mikrometerschraube bedient, bis sich am Kapillarausgang blasenfrei ein Tropfen bildet. Über das angeschlossene Videosystem wird ein Bild des Tropfens aufgenommen und mit Hilfe des Durchmessers der Kanüle softwaregestützt der Absolutwert der Oberflächenspannung ermittelt.

3.3.3 UV-Vis Spektroskopie

Die UV-Vis Spektroskopie ist eine spektroskopische Methode, die den ultravioletten und sichtbaren Anteil des elektromagnetischen Wellenspektrums nutzt. In diesem Bereich des Spektrums absorbieren alle organischen Verbindungen mit typischen Absorptionsbanden. Die optische Dichte (OD) oder auch Extinktion E der absorbierenden Substanzen ist nach dem LAMBERT-BEERSCHEN-Gesetz für verdünnte Lösungen direkt proportional zu deren Konzentration.

$$E = \varepsilon \cdot c \cdot d \quad (9)$$

E = Extinktion

ε = molarer Absorptionskoeffizient, bzw. Extinktionskoeffizient

c = Konzentration

d = Dicke der Küvette

Zur Konzentrationsbestimmung und Untersuchung der Absorptionseigenschaften von BR-Proben wurde ein UV-Vis-Zweistrahl-Spektrometer Kontron Uvikon 922 (Thermo, Dreieich) verwendet.

Aufgrund der Partikelgröße von PM kommt es bei der spektroskopischen Untersuchung von PM-Suspensionen zur optischen Streuung. Der nichtabsorptive Teil der Messung ist wegen der variable Teilchengröße von PM rechnerisch nur schwer ermittelbar. Die Streuung von PM kann als Kombination aus Rayleigh und Mie-Streuung angesehen werden. Die RAYLEIGH-Streuung, die bei Partikeln auftritt, die nicht größer als 0.1λ sind, verhält sich umgekehrt proportional zur 4. Potenz der Wellenlänge. Die Mie-Streuung, die keine Funktion der Wellenlänge ist, tritt bei Partikeln auf, deren Durchmesser ungefähr der Wellenlänge der Strahlung entspricht. Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine lineare Korrektur mit der Subtraktion des Streuuntergrundes bei $\lambda = 800 \text{ nm}$ durchgeführt.

Der zur Berechnung von Konzentrationen verwendete Extinktionskoeffizient für den B-Zustand beträgt $62700 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ und für den M-Zustand $45.000 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.⁴⁰

3.3.4 Reflektionsspektroskopie

Bei der Reflektionsspektroskopie wird Strahlung gemessen, die von einer Probe zurückgeworfen wird. Es wird zwischen gerichteter Reflektion an glatten Oberflächen und ungerichteter diffuser Reflektion an rauen Oberflächen unterschieden. Bei sehr diffusen Oberflächen folgt die Reflektion den LAMBERT-BEERSCHEN-Gesetzen. Die Hauptrückstreuung erfolgt unabhängig von der Einstrahlrichtung senkrecht zum Material. An Papier wird Licht durch die Luftporen zwischen den Fasern diffus gestreut.

Die Reflektion von elektromagnetischen Wellen an Oberflächen erfolgt immer nur teilweise, der andere Teil wird absorbiert. Das Verhältnis zwischen eingestrahelter und reflektierter Strahlung wird als Reflexionsgrad R bezeichnet.

$$R = \frac{I_{refl.}}{I_{einf.}} \quad (10)$$

Bei der praktischen Durchführung von Messungen wird der Reflexionsgrad in Relation zu einem Weißstandard angegeben. Als Weißstandard wird in der Regel das beschichtete oder bedruckte Material, meistens Papier, verwendet.

$$R = \frac{I_{Probe}}{I_{Papier}} \quad (11)$$

Die Reflektionsspektroskopie ist die dominante Anwendung zur Messung und Charakterisierung von Farben. So erfolgt die im nächsten Kapitel beschriebene Berechnung von Farbwerten aus Reflektionsmessungen.

Reflektionsspektren wurden mittels eines Farbmesssystems bestehend aus einer Kamera vom Typ Digital Camera DXM 1200 (Nikon, Düsseldorf) mit Makroobjekt und eingekoppeltem Faser-CCD-Array-Spektrometer vom Typ ADC 1000 USB / AVS-S2000 (Ocean Optics, Duiven, NL) aufgenommen. Weiterhin wurde Reflektionsspektren mit dem Faser-CCD-Array-Spektrometer Insta//Spec (Oriel, Darmstadt) aufgenommen.

3.3.5 Farbmessung

Über Farbmessungen werden Farben mit Hilfe von Zahlenwerten beschrieben. Farben entstehen durch partielle Absorption des auf einen Gegenstand einfallenden Lichtes. Der absorbierte Teil des Lichtes wird meist in Wärme umgewandelt, die nicht absorbierte Strahlung wird transmittiert oder reflektiert. Die wahrnehmbare Farbe ergibt sich aus der Intensität und der spektralen Verteilung der Reflektion.

Die spektrale Verteilung der Reflektion einer Probe ist zusätzlich abhängig von der Intensität und Farbe einer Lichtquelle. Die aus einer Lichtquelle resultierende Umgebungsfarbe und -helligkeit hat somit einen großen Einfluss auf die Wahrnehmung von Farben. Aus diesem Grund wurden für vergleichbare Messungen und Abmusterungen von Farben Normlichtarten definiert. Normlichtart A entspricht einer konventionellen Glühlampe mit einer Farbtemperatur von 2856 K, Normlicht D65 der Strahlungsverteilung des Sonnenlichtes bei 6500 K (grau verhangener Himmel). Weiter sind D50, D55 und D75 genormt, die aber selten verwendet werden. Die Normlichtarten orientieren sich an den Farbtemperaturen des schwarzen Strahlers (Abbildung 18):

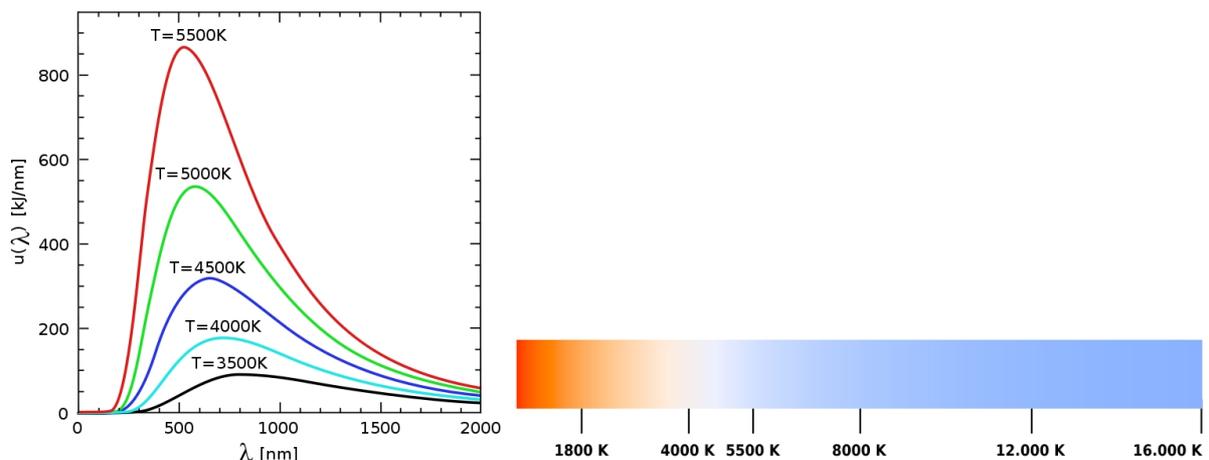


Abbildung 18: Links: Strahlungsverteilung des schwarzen Strahlers in Abhängigkeit von der Temperatur. Je höher die Temperatur ist, desto weiter verlagert sich das Maximum zu kleinen Wellenlängen. Rechts: Farbtemperaturen des schwarzen Strahlers.⁴¹

Die Normlichtarten orientieren sich teilweise am Tageslicht. Für Messungen und Abmusterungen werden jedoch Lichtquellen benötigt, deren Strahlungsverteilung der des Tageslichtes möglichst ähnlich sein sollte. Geeignete Lichtquellen müssen eine kontinuierliche Energie über das gesamte Spektrum abgeben. Für diesen Zweck eignen sich vor allem Xenonhochdrucklampen, die relativ kleine Wellenlängenpeaks aufweisen. Ihre Strahlung kann durch Filterung sehr gut an die Strahlungsverteilung des Tageslichtes angepasst werden. Die Strahlungsverteilung von Normlicht

D65 (Tageslicht) und dem gefilterten Licht einer Xenonhochdrucklampe ist in Abbildung 19 dargestellt.

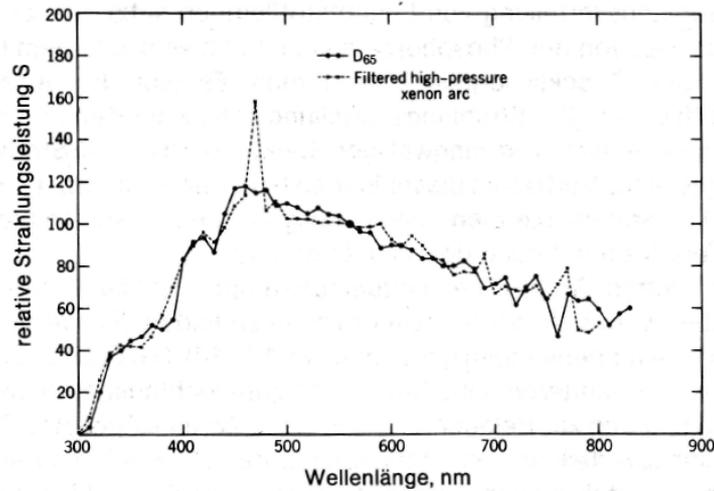


Abbildung 19: Relative Strahlungsverteilung von gefiltertem Licht einer Xenonhochdrucklampe im Vergleich zu D65 (relative Strahlungsverteilung: Strahlung mit einer Wellenlänge von 560 nm wird gleich 100 gesetzt).⁴²

Wie beschrieben hängt die Farbigkeit einer Probe mit der Strahlungsverteilung des reflektierten Lichtes zusammen. In Abbildung 20 sind Reflektionsspektren zweier blauer Proben gezeigt.

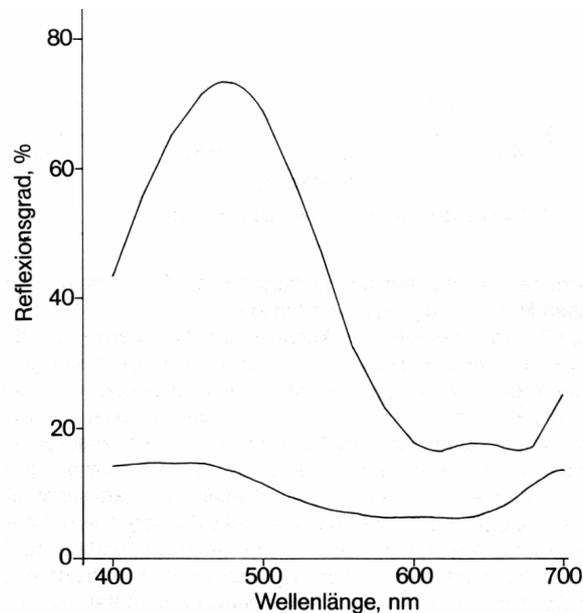


Abbildung 20: Reflektionsspektren zweier blauer Proben.⁴²

Bei beiden Proben wird gelbes und rotes Licht mehr oder weniger stark absorbiert und das blaue Licht am stärksten zurückgeworfen. Je mehr Licht absorbiert wird, desto dunkler sieht eine Probe aus. Die Brillanz einer Farbe hängt mit dem Unterschied zwischen den Reflexionsgraden der größten und kleinsten Absorption

zusammen. Aus diesen Gründen entspricht die obere Reflektion einem sehr brillanten und die untere einem dunklen, eher stumpfen Blau.

Das menschliche Auge kann keine Reflektionsspektren wahrnehmen, verfügt aber über unterschiedliche Farbrezeptoren (Sehzellen), über die die Farbwahrnehmung erfolgt. Abbildung 21 zeigt die Reizantwort der drei unterschiedlichen Farb-Sehzellen (Zapfen) in Bezug zur Wellenlänge des eingestrahlichten Lichtes. Die Empfindlichkeitsmaxima der Zapfen liegen im roten, grünen und blauen Spektralbereich.

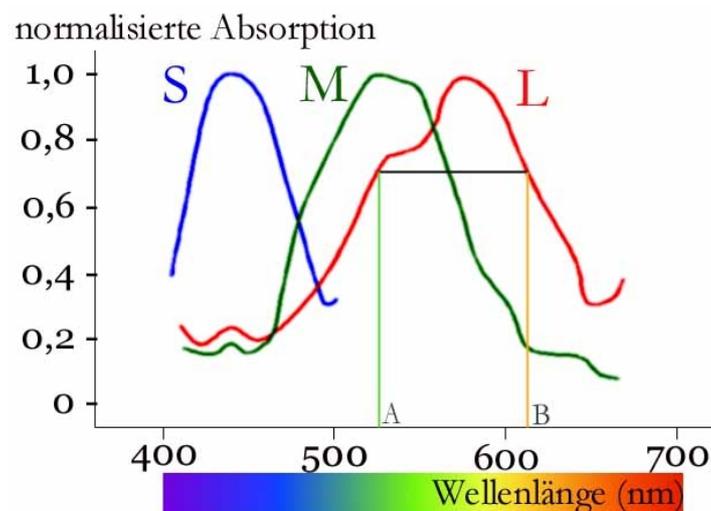


Abbildung 21: Reizantwort der drei unterschiedlichen Zapfen in Bezug zur Wellenlänge des eingestrahlichten Lichtes.⁴¹

Der Farbeindruck entsteht durch additive Farbmischung der drei unterschiedlichen Farbrezeptoren. Bevor der Farbreiz an das Gehirn übertragen wird, werden die Farbreize im Auge miteinander „verrechnet“.

Fällt Tageslicht auf die Netzhaut, so befinden sich die Stäbchen, die für das Nachtsehen verantwortlich sind, in der Sättigung und tragen nicht zum Sehprozess bei. Die drei Zapfenarten ermitteln die drei Grundfarben rot, grün und blau. Die roten und grünen Farbinformationen werden direkt zu einem Farbton verrechnet. Die blauen Farbinformationen werden mit roten und grünen Farbinformationen zu einem Blau-Gelb-Anteil des Lichtes verrechnet. Aus den Farbinformationen Rot-Grün und Blau-Gelb ergeben sich Farbton und Sättigung, die an das Gehirn weitergeleitet werden. Die Summe der Erregung der Sehzellen erzeugt parallel einen Helligkeitseindruck.

Die Farbtheorien versuchen die physiologischen Erkenntnisse des Sehprozesses zu berücksichtigen und das Farbempfinden des Menschen messtechnisch abzubilden. Das Farbempfinden zwischen normalsichtigen Menschen ist aber unterschiedlich und die Farbwahrnehmung kann deswegen nicht absolut richtig durch Zahlen dargestellt werden. Es kann aber eine Aussage darüber getroffen werden, ob zwei Proben gleich sind.

Der heute für Farbmessungen am weitesten verbreitete Farbraum ist der CIE-Lab-Farbraum. Er ist auf Grundlage der Gegenfarbtheorie entworfen worden, die besagt, dass eine Farbe weder gleichzeitig rot und grün, noch gleichzeitig gelb und blau sein kann.

Der CIE-Lab-Farbraum wurde 1976 aus dem CIE-XYZ-Farbraum von 1931 entwickelt um eine empfindungsgemäße Farbcharakterisierung besser darstellen zu können. Im CIE-Lab-Farbraum entsprechen euklidische Abstände näherungsweise den empfindungsgemäßen Farbabständen des Menschen.

Im CIE-Lab-Farbraum werden Farben durch 3 Werte beschrieben, L^* Helligkeit, a^* Rot/Grünwert und b^* Gelb/Blauwert. Die graphische Darstellung erfolgt in einem rechtwinkligen Koordinatensystem, in dem die L^* , a^* und b^* -Achsen in einem rechten Winkel zueinander stehen. Die reinen Farbtöne hoher Sättigung liegen auf dem Rand der Scheibe (Abbildung 22:). Die Sättigung nimmt zum Unbuntpunkt in der Mitte der Scheibe (Grauton) ab. Die zentrale L^* -Achse beschreibt die Helligkeit einer Farbe. Für einen Wert im Koordinatensystem muss es keine Farbe geben, es sind jedoch alle wahrnehmbaren Farben enthalten.

Das $L^*a^*b^*$ - Koordinatensystem reicht für a^* von -150 bis 100 (-Grün bis +Rot), für b^* von -100 bis 150 (-Blau bis +Gelb) und bei der L^* -Achse entspricht $L^* = 0$ schwarz (komplette Absorption) und $L^* = 100$ Weiß (komplette Reflexion).

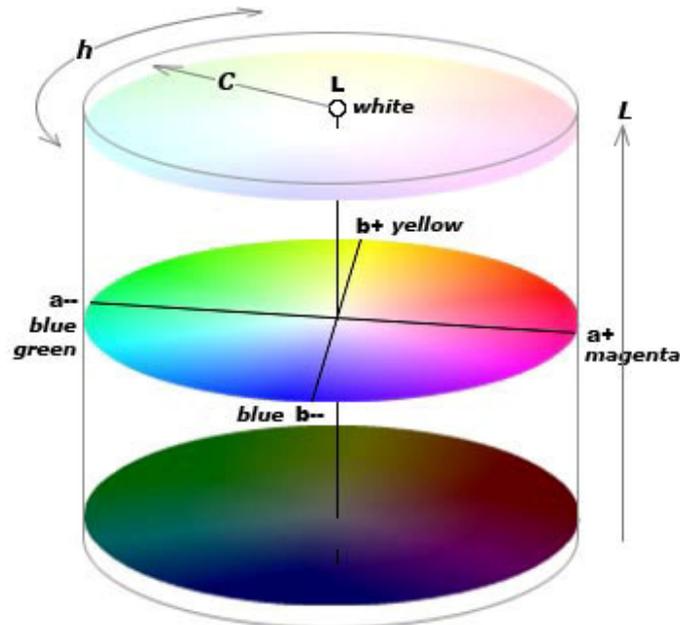


Abbildung 22: Schematische Darstellung des CIE-Lab-Farbraumes.⁴³

Der Kontrast E zwischen zwei Farben umfasst deren Helligkeits- und Farbunterschied. Der Farbabstand ΔE einer Probefarbe und einer Vergleichsfarbe ergibt sich nach:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (12)$$

ΔL^* Differenz auf der Helligkeitsachse,

Δa^* Differenz auf der Grün-Rot-Achse

Δb^* Differenz auf der Gelb-Blau-Achse

Die Farbabstände zweier Proben werden folgendermaßen bewertet:

ΔE	Bewertung
0.0 – 0.5	Kein bis fast kein Unterschied
0.5 – 1.0	Unterschied kann für das geübte Auge bemerkbar sein
1.0 – 2.0	Merklicher Farbunterschied
2.0 – 4.0	Wahrgenommener Farbunterschied
4.0 – 5.0	Wesentlicher Farbunterschied, der selten toleriert wird
> 5.0	Die Differenz wird als neue Farbe bewertet

Die Messungen der Drucke wurden mit einem Handmessgerät vom Typ Color-Guide 45/0 (BYKGardner, Geretsried) durchgeführt. Als Normlichtquelle wurde falls nicht anders angegeben D65/10° verwendet.

4 Verwendung von Tensiden in PM-Inkjetttinten

Tinten für den Inkjetdruck benötigen eine relativ geringe Oberflächenspannung von 26-55 mN/m. Erst bei einer solch niedrigen Oberflächenspannung können die Tinte führenden Bereiche benetzt werden und die Kapillaren des Druckkopfes sich mit Tinte füllen. Die Oberflächenspannung spielt nicht nur bei dem Druckprozess eine entscheidende Rolle, sondern beeinflusst auch die Benetzbarkeit und die Trocknungszeiten einer Tinte.

Die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Purpormembran (PM) basierenden Inkjetttinten verwenden als Lösungsmittel Wasser. Wasser hat zum Verdrucken im Inkjetdruck eine zu hohe Oberflächenspannung. Allgemein kann die Oberflächenspannung von Flüssigkeiten mit Tensiden herabgesetzt werden. Tenside sind grenzflächenaktive Substanzen, die aufgrund ihrer charakteristischen amphiphilen Struktur, bestehend aus einem hydrophoben (Kohlenwasserstoffrest) und einem hydrophilen Molekülteil, die Oberflächenspannung zwischen zwei Phasen herabsetzen. Die PM ist aber gerade, wie in Kapitel 5.1 beschrieben wird, gegen amphiphile Moleküle instabil.

Die Lösbarkeit von Bakteriorhodopsin in Tensiden wurde schon in vielerlei Hinsicht untersucht.^{44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51} In der Literatur werden die Begriffe Bakteriorhodopsin (BR), das Membranprotein, und Purpormembran (PM), BR eingebettet in die Lipidmatrix, so wie in dieser Arbeit oft synonym verwendet. Falls der Unterschied zum wissenschaftlichen Verständnis von Bedeutung ist, geht dies eindeutig aus dem Text hervor.

Weitgehende Untersuchungen zu Tensiden wurden im Rahmen dieser Arbeit notwendig, da sich das bisher eingesetzte Tensid Surfynol CT-291 für die Herstellung von Inkjetttinte als unbrauchbar erwies. Wie in Kapitel 4.2.1 gezeigt wird wirkt es denaturierend auf BR.

Klassifizierung von Tensiden

Tenside bestehen aus mindestens einer hydrophilen und einer hydrophoben Partialstruktur. Bei der hydrophilen Teilstruktur handelt es sich um polare funktionelle Gruppen wie zum Beispiel Carboxylat- (CO_2^-) , Sulfat- $(-\text{OSO}_3^-)$, Sulfonat-Gruppen- $(-\text{SO}_3^-)$, quartäre Ammoniumionen (R_4N^+) oder Polyetherketten. Der hydrophobe Teil besteht meist aus unpolaren Kohlenwasserstoffresten.

Tenside werden nach Art und Ladung des hydrophilen Molekülanteils in vier unterschiedliche Gruppen eingeteilt:

- anionische Tenside
- kationische Tenside
- nichtionische Tenside
- amphotere Tenside

Unterklassifizierung von nichtionischen Tensiden

Bei nichtionischen Tensiden gibt es eine weitere Klassifizierungsmöglichkeit. Die Einteilung erfolgt nach dem HLB-Wert (**hydrophilic-lipophilic-balance**), der den hydrophilen und lipophilen Masseanteil beschreibt. Die Einteilung wurde 1954 von W.C. Griffin über folgender Berechnung vorgeschlagen:

$$\text{HLB} = 20 \cdot \left(1 - \frac{M_1}{M} \right) \quad (13)$$

M_1 : Molmasse des hydrophoben Anteils

M : Molmasse des gesamten Moleküls

Faktor 20: frei gewählter Skalierungsfaktor

Ein HLB-Wert von 1 entspricht einer lipophilen Verbindung und einer von 20 einem hohen hydrophilen Anteil. Nichtionische Tenside finden nach ihrem HLB-Wert unterschiedliche Einsatzgebiete:

HLB	Verwendung	Mischbarkeit in H₂O
1-3	Entschäumer	unlöslich
3-8	für Wasser/Öl Emulsionen	milchig beim Umrühren
7-9	Netzmittel	
8-16	für Öl/Wasser Emulsionen	stabile (milchige) Emulsion
13-16	Detergentien	klare Emulsion / Lösung
15-40	Lösungsvermittler	klare Emulsion / Lösung

4.1 Löslichkeit von Bakteriorhodopsin in Tensiden

Bei der Bildung der Tertiärstruktur von Proteinen spielen hydrophobe Wechselwirkungen eine große Rolle. Proteine bestehen aus hydrophoben und hydrophilen Aminosäuren. Je nach Lage der hydrophilen Aminosäuren können Proteine in Wasser gelöst werden. Während wasserlösliche Proteine eine hydrophile Oberfläche besitzen, besteht die Oberfläche der in Wasser unlöslichen Membranproteine, wie BR, hauptsächlich aus hydrophoben Aminosäuren.

BR kann mit Hilfe von Tensiden aus der PM gelöst und in Micellen eingebunden werden. Der Lösungsprozess verläuft in drei Schritten.⁴⁴ Das Tensid bindet an das Protein, lagert es in die Micellen ein und trennt anschließend unter Bildung eines Tensid-Protein-Komplexes die Lipide vom Protein.

Die Wechselwirkungen zwischen BR und Tensiden können sehr unterschiedlich sein. Tenside können

- selektiv die Membran des *Halobacterium salinarums* lösen
- Lipide aus der PM unter Erhalt der Kristallstruktur lösen
- BR unter Erhalt der Tertiärstruktur lösen und monomerisieren
- BR unter Freisetzung des Retinals denaturieren

In der Literatur werden von KHORANA et. al. durch den Einsatz von Tensiden Techniken zur Delipidisierung, Denaturierung, Renaturierung und Rekonstitution von BR beschrieben.^{45a-c} Bei der Herstellung von Bakteriorhodopsinkristallen für die Strukturaufklärung werden ebenfalls Tenside eingesetzt.¹⁴

Die Auswahl der richtigen Tenside für eine bestimmte Anwendung kann, aufgrund der nicht vorhersagbaren Wechselwirkungen, nur über ein Trial & Error Verfahren erfolgen. Die meisten Tenside, vor allem ionische, denaturieren BR unter Freisetzung des Retinals. Milde Tenside, vor allem nichtionische, zeigen auch andere Wirkungsweisen auf BR, bzw. die PM. Die Wechselwirkungen zwischen Tensiden und BR können durch UV-Vis-Spektroskopie aufgrund des großen Extinktionskoeffizienten ($\epsilon_{570} = 64.000^{-1}$), der ein Arbeiten mit geringen Konzentrationen ermöglicht, gut untersucht werden.

Im Folgenden werden einige aus der Literatur bekannte Untersuchungen von BR mit Tensiden vorgestellt:

Delipidisierung

Bei der Delipidisierung wird ein Teil der Lipide aus der PM herausgelöst, die Kristallstruktur der PM bleibt erhalten, es ändern sich nur die Gitterabstände. So werden durch Deoxycholat 80% der Lipide aus der PM herausgelöst, ohne dass es zu einer Bindungsänderung zwischen den Monomeren der BR-Trimere kommt. Der Gitterabstand zwischen den BR-Trimeren wird jedoch um ca. 5 Å kleiner.⁴⁶

Lösen von Bakteriorhodopsin

Durch diverse Tenside wie z.B. Triton X-100 oder CHAPS kann BR aus der PM gelöst werden. In den gebildeten BR-Tensid-Komplexen liegt das BR in monomerer Form vor. Die tertiäre Struktur des BRs, wie auch seine photochemische Aktivität, bleiben erhalten. Die Kinetik des Photozyklus ändert sich jedoch beträchtlich.⁴⁷ Weiterhin sind bei monomerem BR ein Blaushift zu 550 nm und eine Abnahme des Absorptionsmaximums zu beobachten. Der Blaushift wird durch Wechselwirkungen zwischen dem Tensid und dem BR nach dem Solvatationsprozess verursacht.⁴⁸

Denaturierung

Von einer Denaturierung des BRs ist auszugehen, wenn es zur Freisetzung des Retinals kommt. Bei der Freisetzung des Retinals geht der Opsinshift verloren und es zeigt sich eine Absorption bei ca. 380 nm.

Tendenzen

Die Wechselwirkung zwischen BR und Tensiden erfolgt aufgrund der bemerkenswerten Stabilität des in die PM eingebetteten BRs nur sehr langsam. So dauert der Lösungsprozess von BR mit Triton X-100 Stunden bis Tage, während andere Proteine in einem Zeitraum von Sekunden bis Minuten gelöst werden.⁴⁹

Die unterschiedlichen Lösungsverhalten von Triton X-100 und Deoxycholat führen Rio et al.⁵⁰ auf sterische Faktoren zurück. Demnach kann das Deoxycholat infolge einer sterischen Hinderung nicht in die Membran eindringen und das BR lösen.

TAN et al.⁵¹ versuchten einen Zusammenhang zwischen der Tensid- und Micellenstruktur und der Denaturierung von BR herzustellen. Hierbei wurden

kationische Tenside (Alkylammoniumtenside) mit unterschiedlichen Kettenlängen und Kopfgruppen eingesetzt. Bei Alkylammoniumtensiden ist nach Zugabe eine schnelle Abnahme der Absorption um 30-50% wie auch ein kleiner hypsochromer Shift zu beobachten. Die Geschwindigkeit des Bleichens wird zum Einen durch die Tensidkonzentration und zum Anderen durch die Struktur des Tensides beeinflusst. Eine Rolle spielen hierbei das micellare Umfeld, die Länge des hydrophoben Teils, die Größe der Kopfgruppe und die Hydrophobizität der Kopfgruppe. Die Geschwindigkeit steigt vor allem mit der Tensidkonzentration und der Länge des hydrophoben Tensidteils. Durch einen größeren hydrophoben Teil bilden sich größere Micellen, die eine höhere Hydrophobizität besitzen. Die Größe der Kopfgruppe und dessen Hydrophobizität bestimmen ebenfalls, wie gut das Tensid das Protein lösen kann.

Tenside für den technischen Einsatz

Für die technische Anwendung von BR ist es wichtig Tenside zu finden, die die optischen Eigenschaften von BR nicht verändern. Da Lösungsprozesse bei BR sehr langsam ablaufen können, müssen mit Tensiden versetzte PM-Suspensionen über einen langen Zeitraum beobachtet werden. Um die Kinetik der Denaturierung zu beschleunigen können entsprechende Probe auch kurzzeitig auf über 70°C, den ersten Phasenübergang des BRs, erhitzt werden. Oberhalb dieser Temperatur kommt es zu einer Lockerung der Lipidmatrix und somit zu einer Destabilisierung der PM.

4.2 Anwendung von Tensiden in PM-Inkjetttinten

4.2.1 Verwendung des Tensides Surfynol® CT-291

Vor dieser Arbeit wurde schon im Rahmen einer Kooperation eine Tintenrezeptur mit PM für den Inkjetdruck entwickelt.⁵² Bei Arbeiten mit dieser Rezeptur zeigte sich, dass BR von Inhaltsstoffen der Tinte langsam denaturiert wird. Bei Überprüfung der Inhaltsstoffe stellte sich heraus, dass das zur Reduktion der Oberflächenspannung verwendete Tensid Surfynol® CT-291 Bakteriorhodopsin in der eingesetzten Konzentration langsam denaturiert. Die Überprüfung erfolgte mittels UV-Vis-Spektroskopie. In einer Mikroküvette (70 μL , Plastibrand®, Wertheim) wurde 1 mL einer Tensidlösung bestimmter Konzentration mit 100 μL einer 0,1 g/100g BR-Suspension versetzt. Die Messungen erfolgten direkt nach Zugabe des BRs zu der Tensidlösung und nach unterschiedlichen Zeitabständen.

Bei hohen Tensidkonzentrationen von 1 g/100g war innerhalb von 4 Stunden ein nahezu vollständiger Abbau des BRs zu beobachten.

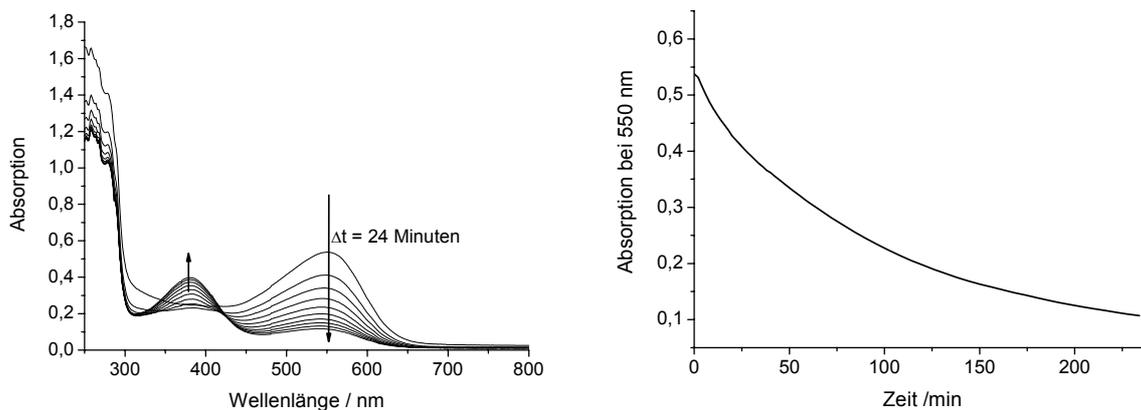


Abbildung 23: Denaturierung von BR durch Surfynol® CT-291. In einer 1 g/100g Surfynol® CT-291 Lösung erfolgt innerhalb von 4 Stunden die nahezu vollständige Denaturierung. Links: UV-Vis-Messungen in einem Abstand von 24 Minuten. Rechts: Zeitlicher Verlauf des Abbaus.

Bei der in der Tintenrezeptur verwendeten Konzentration an Surfynol® CT-291 erfolgte innerhalb von Stunden eine starke Änderung der Absorption des BRs. Die vollständige Denaturierung des BRs dauerte jedoch mehrere Tage.

4.2.2 Screening von Tensiden für eine Anwendung in PM-Inkjetttinten

Für die Herstellung von Inkjetttinten auf Wasserbasis ist die Verwendung eines Tensides unerlässlich. Bei Inkjetttinten mit PM als Pigment ist dies wegen der Empfindlichkeit des BRs bzw. der PM gegen Tenside ein kritischer Bereich. Die Wechselwirkungen von BR mit Tensiden können sehr unterschiedlich sein. Die meisten Wechselwirkungen gehen mit einer Veränderung der optischen Eigenschaften des BRs einher. Für den Einsatz der PM als photochromes Pigment ist der Erhalt der optischen Eigenschaften eine notwendige Voraussetzung. Veränderungen dieser Eigenschaften können sehr gut über die UV-Vis-Spektroskopie untersucht werden.

Bei der Recherche nach milden mit Proteinen kompatiblen Tensiden wurden einige interessante in Anwendungen erprobte Tenside gefunden, die unter anderem in einem „Surfactant ToolKit“ (QED Bioscience Inc., San Diego) enthalten sind. Das auf eine biochemische Anwendung ausgerichtete ToolKit enthält 23 vorwiegend milde Tenside, mit denen ein Screening durchgeführt wurde, um ein für die Herstellung von PM-Inkjetttinten geeignetes Tensid zu finden.

Die Ergebnisse des Screenings sind im Folgenden dargestellt. Die Auswertung erfolgte nach Vergleich mit der bekannten Literatur unter folgenden Annahmen:

Bei einer Denaturierung des BRs kommt es zu einer Freisetzung des Retinals. Freigesetztes Retinal verliert seinen Opsinshift und zeigt eine Absorption im Bereich von 380 nm. Ist im UV-Vis-Spektrum eine Bande bei 380 nm zu sehen, so wird von einer Denaturierung des BRs ausgegangen.

Bei der Solvataion des Bakteriorhodopsins und der Bildung von Tensid-BR-Komplexen kommt es durch die Wechselwirkung des BRs mit dem Tensid zu einer Abnahme der Hauptbande und einem hypsochromen Shift von 570 nm zu 550 nm. Ist bei Zugabe des Bakteriorhodopsins zu einer Tensidlösung eine entsprechende Änderung in der Absorption zu sehen, so wird von einer Solvataion ausgegangen.

Das Screening wurde mit Tensidkonzentrationen weit oberhalb der kritischen Micellenkonzentration (CMC) durchgeführt. Die meisten Denaturierungs- und Lösungsprozesse finden erst oberhalb der CMC statt.⁴⁴ Eine stabile Reduktion der Oberflächenspannung durch Tenside erfolgt ebenfalls erst oberhalb der CMC.

Die meisten Versuche des Screenings wurden mit einer Tensidkonzentration von 1 g/100 g durchgeführt. Die hohe Konzentration begründet sich zum einen darin, dass Tenside PM-Inkjetttinten in relativ hohen Konzentrationen zugesetzt werden müssen, zu anderen darin, dass es beim Trocknungsprozess durch eine Aufkonzentration der Inhaltsstoffe zu einer Denaturierung des BRs kommen kann. Die Inhaltsstoffe einer Tinte, die bis zu einer bestimmten Konzentration BR nicht denaturieren, können während des Trocknungsprozesses denaturierend wirken. Die Denaturierung ist meist abhängig von der Trocknungszeit, da abhängig von der Konzentration ein Zersetzungsbereich durchschritten wird.

Stabilität von BR-Tensid-Suspensionen bei Raumtemperatur

Die Tenside wurden als 1%ige Lösung in einer Mikroküvette vorgelegt und eine BR-Suspension zugegeben. Direkt nach Zugabe der BR-Suspension wurden 7 UV-Vis-Spektren in einem Abstand von 5 Minuten aufgenommen.

Es zeigte sich, dass die nichtionischen Tenside Chemal LA-9, Pluronic[®] L64, Silwet[®] L7600, Tween[®] 20 und Tween[®] 80 direkt bei Zugabe des BRs eine Agglomeration bewirken. Die Bildung von Agglomeraten steht einer Anwendung im Inkjetdruck entgegen.

Die ionischen Tenside des „Surfactant Toolkit“ sind ebenfalls für die Herstellung von Tinten nicht anwendbar. Meist kommt es direkt bei Zugabe des BRs zu einer schnellen Abbaureaktion.

Bei Zugabe von Benzylalkoniumchlorid bildet sich sofort eine Bande mit $\lambda_{\max} = 361$ nm, die Bande bei 570 nm verschwindet vollständig. Aerosol[®] OT 100% und Ninate[®] 411 denaturieren BR innerhalb von 5 Minuten ebenfalls fast vollständig, wobei bei beiden Tensiden eine Bande bei 430 nm entsteht.

Bio Terge[®] AS-40 denaturiert BR schrittweise. Zuerst entsteht eine breite Bande bei 450 nm, die in eine Bande mit $\lambda_{\max} = 400$ nm übergeht. Die mildesten ionischen

Tenside sind Gerapon® T-77 und Standapol ES-1. Bei diesen Tensiden verläuft die Denaturierung langsam, aber auch hier entsteht innerhalb von 30 Minuten eine Bande mit $\lambda_{\max} = 390 \text{ nm}$.

Bei den nichtionischen Tensiden Surfactant 10G, Cremophor® EL, Triton® X-100, Surfynol® 465, Rhodasurf und Surfactant 10G ist innerhalb von 30 Minuten eine Abnahme der Intensität des Hauptpeaks und ein hypsochromer Shift zu den Wellenlängen 550-560 nm zu beobachten. Es ist von einer Solvation des BRs und der Bildung von BR-Micellen-Komplexen auszugehen. Von Triton® X-100 ist dieses Verhalten bekannt. Es bildet mit BR BR-Micellen-Komplexe, in denen das BR in monomerer Form vorliegt.^{49, 50}

UV-Vis-Spektren von IGEPAL® CA210272, Triton® X-45 und Triton® X-305 konnten aufgrund der geringen Löslichkeit dieser Tenside in Wasser nicht ausgewertet werden.

Die bisher genannten Tenside kommen nach den gewonnenen Kenntnissen für eine Anwendung in PM-Inkjetttinten nicht in Frage. Sie agglomerisieren, lösen oder denaturieren das BR. Sie wurden von weiteren Untersuchungen ausgeschlossen.

BR hat sich gegenüber den folgenden Tensiden bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 50 Stunden als stabil erwiesen: BRIJ® 35, Pluronic® F68, Surfynol® 485, Tetronic® 1307 und Zonyl® FSN 100.

Tendenzen

Bei den oben dargestellten Untersuchungen können bei genauerer Betrachtung der Eigenschaften der Tenside Tendenzen festgestellt werden. Ionische Tenside neigen dazu BR schnell zu denaturieren. Eine Ausnahme scheint Deoxycholat zu sein, das aufgrund einer sterischen Hinderung BR nicht lösen kann.^{46, 50}

Den nichtionischen Tensiden, die BR bei Zugabe agglomerisieren ist ein HLB-Wert von 12-17 gemeinsam. Ein eindeutiger Zusammenhang mit den Molekulargewichten ist nicht zu erkennen. Die nichtionischen Tenside, die BR auflösen, besitzen ebenfalls einen HLB-Wert unter 17. Auch hier lässt sich kein Zusammenhang zwischen dem Molekulargewicht und der Wirkung auf BR herstellen.

Die Tenside, die weder agglomerisierend, denaturierend oder lösend wirken, ist ein hoher HLB-Wert ≥ 17 und ein Molekulargewicht von >1000 gemeinsam. Eine Ausnahme stellt Zonyl[®] FSN 100 mit einem Molekulargewicht ≈ 950 dar.

Ein Zusammenhang wird vor allem bei den Tensiden ersichtlich, die einen gleichen strukturellen Aufbau haben und sich nur im HLB-Wert und im Molekulargewicht unterscheiden. Die im „Surfactant Toolkit“ enthaltenen Tenside Pluronic[®] F68, Pluronic[®] L64, Surfynol[®] 485 und Surfynol[®] 465 unterscheiden sich nur im HLB-Wert und im Molekulargewicht. Das jeweilige Tensid mit niedrigerem HLB-Wert und Molekulargewicht löst oder denaturiert BR. Ein Zusammenhang zwischen dem Molekulargewicht und der lösenden Wirkung eines Tensides ist nicht eindeutig, da z.B. auch Silwet[®] L7600 mit einem Molekulargewicht von 4000 BR löst. Kein Tensid mit einem HLB-Wert ≥ 17 wirkt auf BR denaturierend.

Pluronic[®] L64 ($M_w = 2900$, HLB 12-18) führt bei BR zu einer Blaufärbung und einem schnellen Agglomerisieren des BRs. Pluronic[®] F68 ($M_w = 8400$, HLB >24) verändert die Absorption des BRs nach 30 Minuten bei Raumtemperatur nicht. Die Veränderung des Spektrums bei 280 nm ist auf eine veränderte Streuung durch die Bildung von Agglomeraten zurückzuführen.

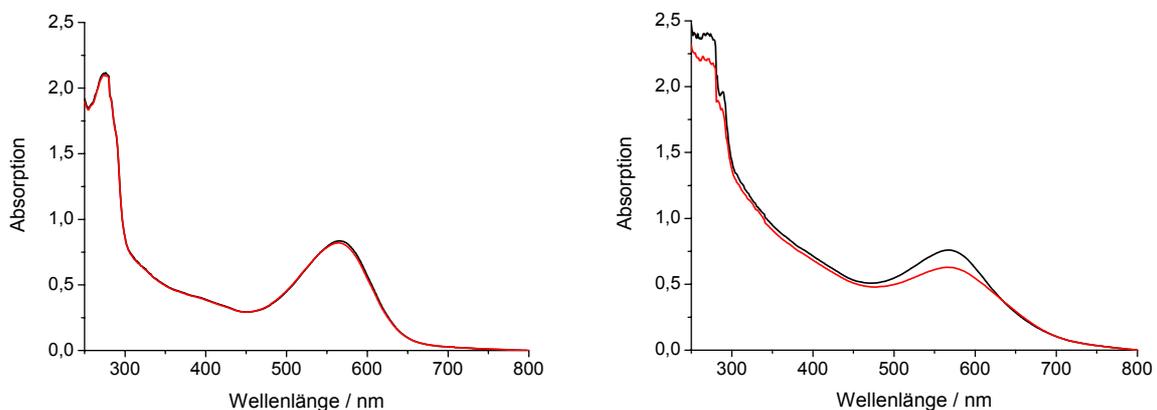


Abbildung 24: Die schwarze Kurve zeigt die Absorption direkt nach Zugabe des BRs zu der Tensidlösung und die rote Kurve die Absorption nach 30 Minuten; Links: Pluronic[®] F68; Rechts: Pluronic[®] L64.

Bei Zugabe von BR zu einer Surfynol[®] 465 Lösung ($M_w < 850$, HLB 13) verändert sich wie in Abbildung 25 zu sehen ist, die Absorption deutlich, während BR in einer Surfynol[®] 485 Lösung ($M_w < 1800$, HLB, 17) stabil bleibt. Auch hier ist bei Surfynol[®] 465 die Bildung von Agglomeraten zu beobachten.

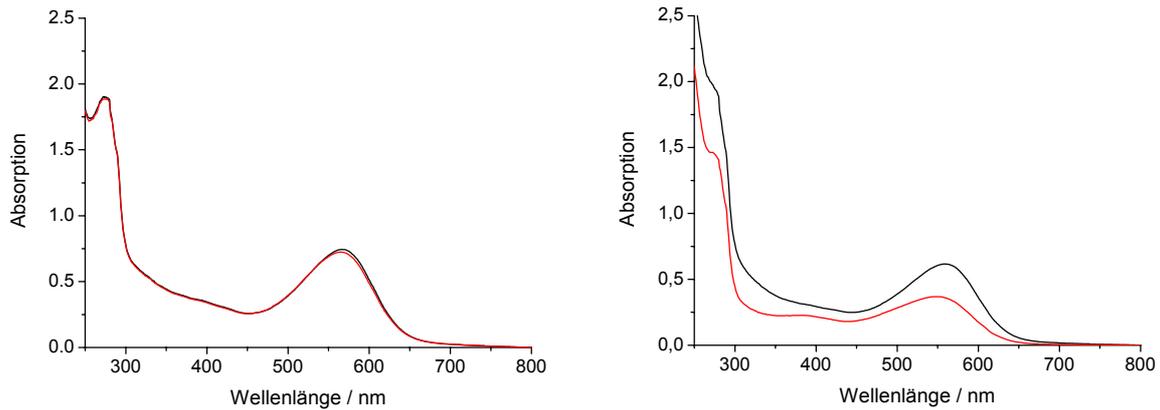


Abbildung 25: Die schwarze Kurve zeigt die Absorption direkt nach Zugabe des BRs zu der Tensidlösung und die rote Kurve die Absorption nach 30 Minuten; Links: Surfydol[®] 485; Rechts: Surfydol[®] 465.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die optischen Eigenschaften von BR am wenigsten von nichtionischen, stark hydrophilen Tensiden mit einem hohen Molekulargewicht verändert werden. Da auch Tenside mit einem Molekulargewicht größer als 1000 mit einem niedrigen HLB-Wert BR lösen oder denaturieren, können diese Effekte nicht auf die Molekülgröße zurückgeführt werden. Ob eine sterische Hinderung wie bei Deoxycholat beschrieben eine Rolle spielt, kann nach diesen Untersuchungen nicht eindeutig geklärt werden. Die größte Rolle scheinen elektrostatische bzw. entropische Effekte zu spielen.

Im Folgenden werden die Tenside, die BR nicht denaturieren, agglomerisieren oder lösen, näher beschrieben. Diese Tenside sind teilweise schon aus Anwendungen in der Biochemie und Biotechnologie bekannt.

Eigenschaften und Anwendungen der interessantesten Tenside

Pluronic® F68

Pluronic® F68 (Poly(oxyethylen-cooxypropylen)blockcopolymer) ist ein Triblockcopolymer aus Polyethylenoxid und Propylenoxid (PEO-PPO-PEO) und besteht zu 80% aus Ethylenoxid.

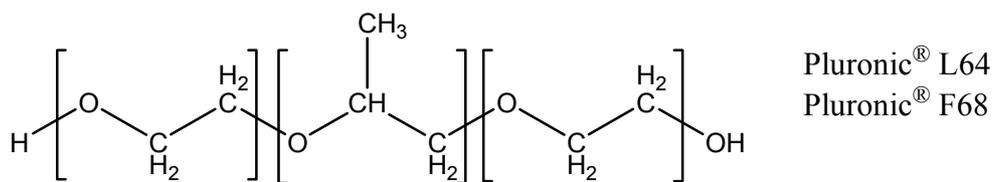


Abbildung 26: Strukturformel von Pluronic® L64 und F68.

Es wird in der Zellkulturtechnik von Säugerzellen eingesetzt, um diese in größerem Maßstab zu kultivieren. Es verhindert die Anheftung von Luftblasen an Zellen, die beim Durchmischen der Fermenter entstehen und erhöht die Resistenz der Zellmembran gegen hydrodynamische Scherkräfte.⁵³

BRIJ® 35

BRIJ® 35 (Polyoxyethylen(23)dodecylether) ist ein Copolymer, dessen lipophiler Teil aus Fettalkoholen und dessen hydrophiler Teil aus Polyethylenglykolen besteht.

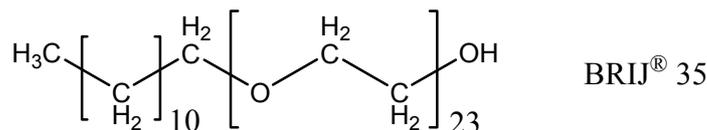


Abbildung 27: Strukturformel von BRIJ® 35.

BRIJ® 35 ist zum Emulgieren von Fetten und Ölen in saurem oder alkalischem Milieu geeignet und verbessert die Benetzbarkeit. Die Familie der Polyalkylenglykolether als Tenside findet eine breite Anwendung in Körperpflegeprodukten, Textilverarbeitung, Pflanzenschutzmitteln, Farben und Beschichtungen. BRIJ® 35 speziell findet weiterhin Anwendung als Detergenz in der Biochemie, da es im Gegensatz zu SDS Proteine nicht denaturiert. Es wird benutzt, um Membranproteine in ihrer nativen Konformation aus Membranen herauszulösen.⁵⁴

Zonyl FSN[®] 100

Zonyl[®] FSN 100 (Telomer B monoether mit Polyethylenglykol) ist ein ethoxyliertes Fluortensid. Der hydrophobe Teil besteht aus fluorierten Kohlenwasserstoffen und der hydrophile Teil aus Ethylenoxid.

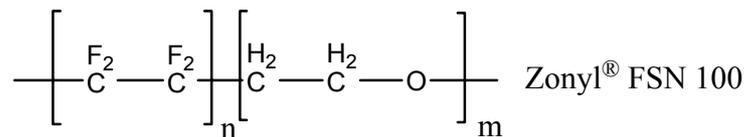


Abbildung 29: Strukturformel von Zonyl[®] FSN 100.

Dieses Tensid ist ein effektives Additiv für die Herstellung von wasser- und lösungsmittelbasierenden Farben, Wachsen und Polituren. Es setzt auch bei geringen Konzentrationen die Oberflächenspannung stark herab, verbessert die Benetzbarkeit, wirkt aber schaumstabilisierend.⁵⁷

Temperaturstabilität von BR-Tensid-Suspensionen

Gegenüber den 5 Tensiden BRIJ[®] 35, Pluronic[®] F68, Surfynol[®] 485, Tetronic[®] 1307 und Zonyl[®] FSN 100 zeigt sich BR über einen Zeitraum von 50 Stunden stabil, so dass von einer gewissen Langzeitstabilität ausgegangen werden kann. In einer nächsten Untersuchung wurden Suspensionen dieser Tenside mit BR über einen Zeitraum von 36 Stunden auf 50°C erhitzt. Aus den daraus gewonnenen Erkenntnissen kann eine Aussage über die Temperaturstabilität der späteren Tinten getroffen werden. Dies ist zum Einen im Hinblick auf die Lagerbedingungen der Tinte wichtig, zum Anderen kann der eingesetzte Druckkopf geheizt werden. Das Erwärmen des Druckkopfes ist vor allem bei der Entwicklung von Tinten interessant, da hierdurch die Viskosität einer Tinte in einem gewissen Rahmen verändert werden kann.

Bei diesem Test kam es bis auf bei Zonyl[®] FSN 100 zu einer Denaturierung des BRs. In Abbildung 30 sind die Spektren von Zonyl[®] FSN 100 und BRIJ[®] 35 zu sehen. Die schwarze Kurve zeigt die Absorption vor und die rote Kurve die Absorption nach dem Erhitzen. Bei Zonyl[®] FSN 100 ist nur eine minimale Veränderung zu sehen, während die Probe des BRIJ[®] 35 eine deutliche Abnahme der Bande bei 570 nm und eine

Zunahme bei 390 nm zeigt. Die Absorption der Proben mit Pluronic® F68, Surfynol® 485 und Tetronic® 1307 ändert sich wie die der Probe mit BRIJ® 35.

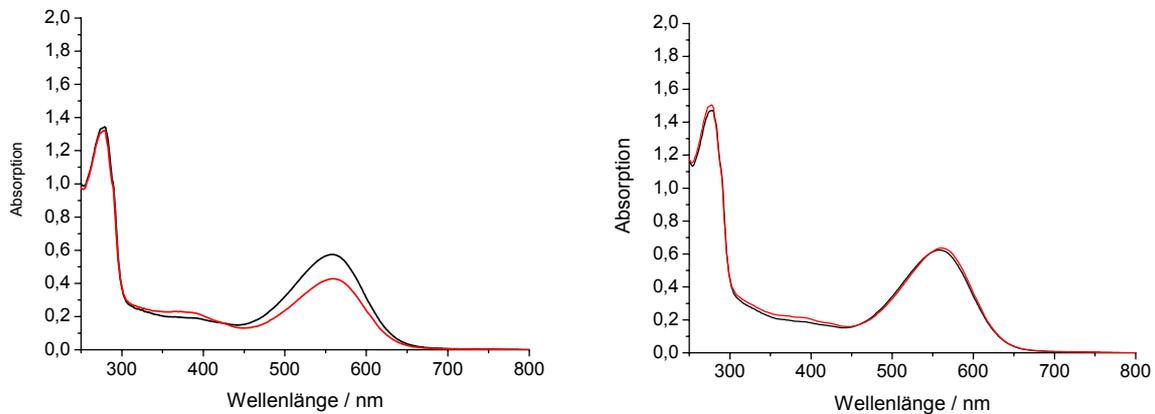


Abbildung 30: Änderung der Absorption von Tensid-Lösungen mit BR die für 36 Stunden auf 50°C temperiert wurden. Die schwarze Kurve zeigt die Absorption vor und die rote Kurve die Absorption nach dem Erhitzen. Links: BRIJ® 35; Rechts: Zonyl® FSN 100.

Aufgrund dieser Ergebnisse sollten nur Inkjetttinten, die Zonyl® FSN 100 enthalten, über einen längeren Zeitraum auf 50°C erhitzt werden.

Bei der nächsten Untersuchung wurde ein Stresstest durchgeführt. BR hat bei 70°C, wie in DSC- und Röntgenbeugungsuntersuchungen gezeigt wurde, einen reversiblen Phasenübergang.^{12,58} Dieser reversible Phasenübergang kann auch per UV-Vis-Spektroskopie als Änderung der Absorption beobachtet werden. Wird eine BR-Suspension auf 50°C erhitzt, so zeigt sich keine Veränderung im Spektrum. Erhitzt man eine BR-Suspension aber über 70°C, zeigt sich eine kontinuierliche Abnahme der Absorption und ein hypsochromer Shift von 568 nm zu 556 nm. Nach dem Abkühlen (10 Minuten) zeigt die Probe wieder die ursprüngliche Absorption. Beim Wiederholen des Versuches mit der gleichen Probe zeigt sich nach dem Abkühlen ebenfalls wieder die ursprüngliche Absorption.

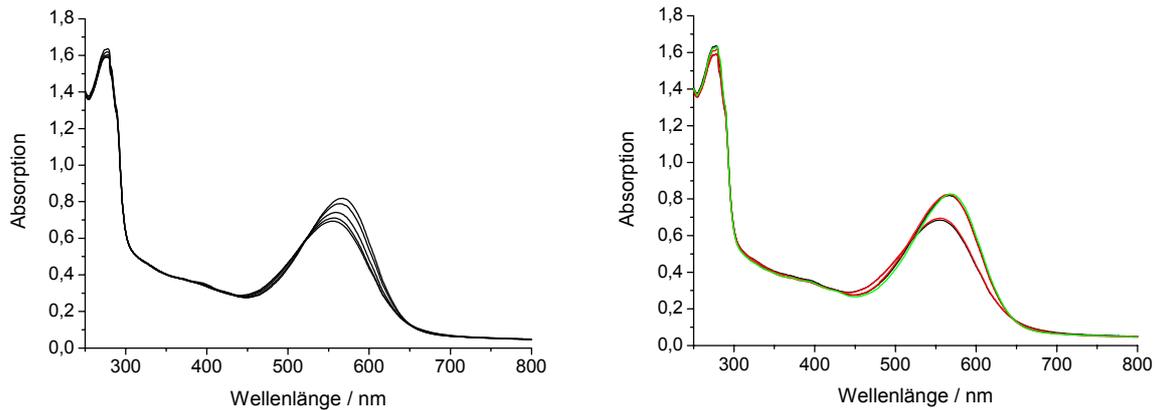


Abbildung 31: Rechts: Entwicklung der Absorption des BRs beim Erhitzen über 70°C. Links: Absorptionverlauf beim Erhitzen auf 70°C; Schwarz: 1. Messung, Rot: 2. Messung, Grün 3. Messung (nur nach dem Abkühlen).

Unter der Annahme, dass beim Phasenübergang des BRs Bindungskräfte abnehmen, sollte das BR durch Tenside oberhalb von 70°C leichter und schneller gelöst werden können. Langsam ablaufende Lösungs- und Denaturierungsprozesse sollten auf diese Weise beschleunigt werden.

Die Proben mit den Tensiden Pluronic® F68, Surfynol® 485, Tetronic® 1307 und Zonyl® FSN 100 verhalten sich wie die Probe ohne Tensid. Nur bei der Probe mit dem Tensid BRIJ® 35 ist eine irreversible Veränderung zu beobachten. Die Absorption der Hauptbande nimmt immer weiter ab, die hypsochrome Verschiebung geht beim Abkühlen aber wieder zurück.

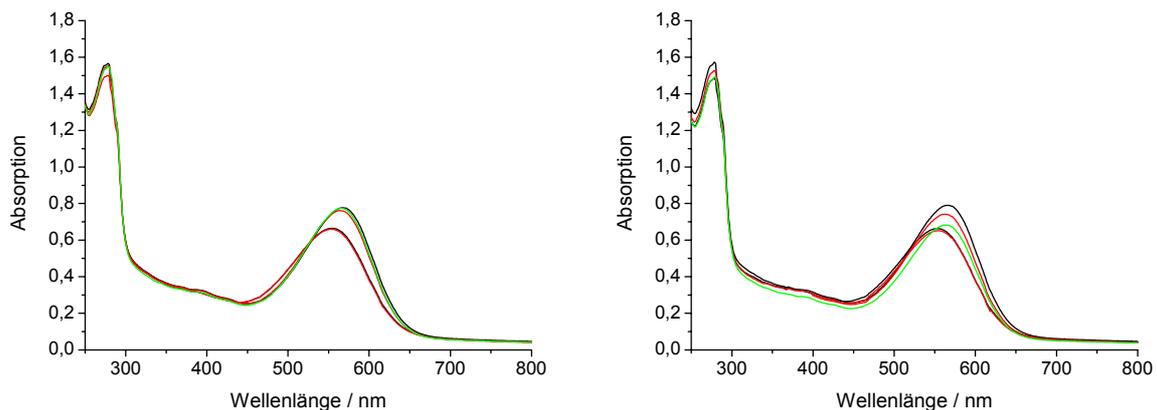


Abbildung 32: Absorption von BR-Tensid-Suspensionen vor und nach dem Erhitzen auf 70°C. Schwarz: 1. Messung, Rot: 2. Messung, Grün 3. Messung (nur nach dem Abkühlen) Links: Mit dem Tensid Zonyl® FSN 100, die Änderung ist reversibel. Rechts: Mit dem Tensid BRIJ® 35, die Abnahme der Absorption ist irreversibel, die hypsochrome Verschiebung reversibel.

4.3 Zusammenfassung

Nach den vorliegenden Ergebnissen ist BR vor allem gegen hydrophile, nichtionische Tenside stabil. Dies steht im Einklang zu den Ergebnissen von EISENBACH et al., die in Kapitel 5.1 vorgestellt werden. Nach diesen Ergebnissen ist BR entweder gegen stark hydrophile oder hydrophobe Verbindungen stabil. Ambivalente Verbindungen können BR schnell und in geringen Konzentrationen denaturieren. So zeigt sich BR auch gegen einige Entschäumer, die extrem hydrophob sind, stabil.

Milde hydrophile Tenside haben den Nachteil, dass sie die Oberflächenspannung erst bei hohen Konzentrationen in dem für den Inkjetdruck notwendigen Maße herabsetzen. Weiter spielt im Inkjetdruck, bei dem Tropfen innerhalb von Millisekunden erzeugt werden, die Geschwindigkeit, in der die Oberflächenspannung herabgesetzt wird, eine große Rolle. Das Tensid Surfynol[®] 485 setzt laut Hersteller die Oberflächenspannung einer Lösung nur sehr langsam herab und ist deswegen für den Inkjetdruck nicht geeignet. Als am besten verträglich hat sich das Tensid Zonyl[®] FSN 100 erwiesen. Eine Denaturierung mit diesem Tensid konnte erst unter Bedingungen beobachtet werden, unter denen auch eine BR-Suspension ohne Tensid denaturiert wird. Zusätzlich setzt dieses Tensid die Oberflächenspannung sehr effizient herab, so dass es nur in geringen Konzentrationen eingesetzt werden muss.

Die Anwendung von Fluortensiden in Inkjetttinten ist beschrieben.⁵⁹

Tabelle 1: Tabellarische Zusammenfassung der angestellten Untersuchungen

Tensid	Zonyl FSN [®] 100	Pluronic [®] F68	Surfynol [®] 485	Tetronic [®] 1307	BRIJ [®] 35
Oberflächen- spannung 0,1% mN/m	21*	50*	51*	44*	44
Stabilität bei RT über 50h	✓	✓	✓	✓	✓
Pulsstabil bei 70°C	✓	✓	✓	✓	X
Langzeitstabilität bei 50°C über 36h	✓	X	X	X	X
HLB	N.N.	>24*	17*	>24*	16.9*
M _w	≈ 950	8400	<1800	18600	1200

*Herstellerangaben

Anwendung von Fluortensiden

Perfluorierte Verbindungen und damit auch Fluortenside sind aus Umweltschutzgründen Gegenstand der öffentlichen Diskussion. Aufgrund ihrer hervorragenden und teilweise einzigartigen Eigenschaften finden perfluorierte Verbindungen eine breite Anwendung. Besonderheiten dieser Verbindungen sind die Stabilität der C-F-Bindung und die geringe Oberflächenspannung.

So sind Fluortenside allgemein hocheffektive Benetzungsmittel. Mit ihnen lassen sich deutlich bessere Oberflächenspannungsreduktionen erzielen, als mit anderen Benetzungsmitteln. Einige Materialien lassen sich nur mit Hilfe von Fluortensiden benetzen. Zusätzlich ist die Einsatzmenge von Fluortensiden geringer, so dass die übrigen Eigenschaften eines Systems durch das Tensid weniger beeinflusst werden. Ein Problem der Fluortenside ist, dass sie zwar keinen Schaum erzeugen, aber stabilisierend auf vorhandenen Schaum wirken.⁶⁰

Durch die Stabilität der C-F-Bindung sind fluorierte Kohlenwasserstoffe und besonders perfluorierte Kohlenwasserstoffe Abbaumechanismen kaum zugänglich. Es findet keine Hydrolyse statt und Licht und Hitze können die C-F-Bindung nicht spalten. In Mikroorganismen kommt es ebenfalls nicht zum Abbau. Aus diesen Gründen kommt es zu einer Anreicherung von fluorierten Verbindungen in der Natur.

Kurzkettige perfluorierte Verbindungen sind in der Umwelt weit verbreitet. Einige dieser Verbindungen reichern sich in der Nahrungskette an und können selbst im Lebergewebe von grönländischen Eisbären nachgewiesen werden (Nachweisgrenze: ppt-Bereich (ng/kg)). Die Mechanismen der Anreicherung im Menschen sind nicht hinreichend bekannt, aber es wird vermutet, dass Abwässer aus Industrie und Haushalten, sowie die Exposition durch Verbraucherprodukte verantwortlich sind.

Tierversuche mit perfluorierten Verbindungen wurden vor allem zur Perfluoroktansäure und Perfluoroktansulfonsäure angefertigt. Ratten können diese Verbindungen auch über die Haut aufnehmen und sie fördern die Bildung von Lebertumoren. Tiere scheiden diese Verbindungen relativ schnell aus, während die Halbwertszeit von Perfluoroktansäure im menschlichen Körper 4,4 Jahre beträgt. Aus diesen Gründen gibt es internationale Anstrengungen die Herstellung und Verwendung von Perfluoroktansäure und Perfluoroktansulfonsäure zu verbieten.

Perfluorierte Polymere sind als relativ unkritisch anzusehen, da sie keinen Transportprozessen unterliegen.⁶¹ Perfluoroktansäure und Perfluoroktansulfonsäure sind jedoch Nebenprodukte bei einigen Herstellungsprozessen und können im fertigen Produkt als Verunreinigung enthalten sein.

Bei der Diskussion um den Einsatz der perfluorierten Tenside werden hauptsächlich die Perfluoroktansäure und die Perfluoroktansulfonsäure genannt, die zum Beispiel immer noch in Löschschäumen Anwendung finden. Ethoxylierte Fluortenside wie das Zonyl® FSN 100, werden in der Diskussion nicht explizit erwähnt. Vergleichbare Gefahren für die Umwelt und Gesundheit durch ethoxylierte Fluortenside sind nicht beschrieben. Dennoch sind perfluorierte Tenside wenn möglich durch andere Tenside zu ersetzen.

Eine EU-Verordnung zum allgemeinen Verbot von perfluorierten Tensiden zielt auf industrielle Anwendungen ab, bei denen perfluorierten Tenside nach heutigem Wissensstand häufig leicht ersetzt werden können. Spezialanwendungen, bei denen zudem meist nur kleine Mengen eingesetzt werden, sind nicht betroffen. Bei PM-Inkjetttinten handelt es sich um eine solche Spezialanwendung, zu deren Herstellung nur kleine Mengen der Fluortenside benötigt werden. So werden zur Herstellung von einem Liter PM-Inkjetttinte ca. 1,5 g des Fluortensides benötigt, mit den Mengen einer industriellen Anwendung wie der Galvanisierung nicht vergleichbar.

Nach dem jetzigen Kenntnisstand lässt sich das Fluortensid Zonyl® FSN 100 aufgrund seiner einzigartigen Verträglichkeit mit Bakteriorhodopsin bei gleichzeitiger guter Oberflächenspannungsreduktion nicht ersetzen.

5 Entwicklung und Herstellung von PM-Inkjetttinten

Im Rahmen einer Kooperation wurde bereits vor Beginn dieser Arbeit eine Inkjetttinte mit Purpurmembran (PM) als Pigment auf Basis von Glycerin und Wasser entwickelt. Ein schwacher photochromer Effekt konnte bei dieser Tinte durch Auftragen einer Schicht mit Photochromiehilfsstoffen erreicht werden.⁵²

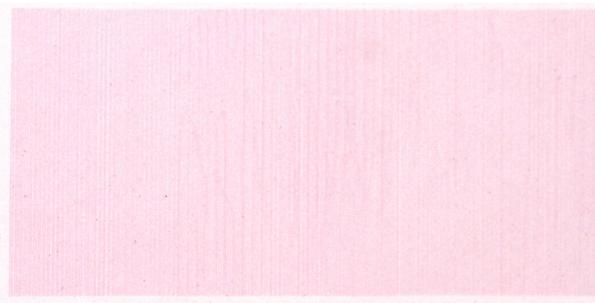


Abbildung 33: Ausdruck der ersten auf Wasser und Glycerin basierenden PM-Inkjetttinte.

Die Weiterentwicklung der bestehenden Tinte zu einer Tinte mit einer guten Photochromie oder die Neuentwicklung einer photochromen Tinte sind Gegenstand dieser Arbeit. Darüber hinaus erfolgt die Untersuchung der hergestellten Drucke.

Für die Herstellung photochromer Inkjetttinten wurde die BR-Mutante D₉₆N verwendet. Diese Mutante zeichnet sich gegenüber dem BR-Wildtyp durch eine erheblich längere Lebensdauer des M-Zustandes aus. Die Lebensdauer des M-Zustandes hängt von der Geschwindigkeit der Reprotonierung ab, die in der Mutante D₉₆N langsamer abläuft. Für eine Anwendung als photochromes Pigment muss die Geschwindigkeit der Reprotonierung weiter durch eine Verringerung der Protonenverfügbarkeit erschwert werden. In Lösung funktioniert das sehr gut über die Einstellung des pH-Wertes, in festen Farbschichten kann die Protonenverfügbarkeit durch Amine im Zusammenspiel mit Wasser als Protonenakzeptor verringert werden. In vorangegangenen Arbeiten zu Siebdruck- und Tampondruckfarben hat sich Arginin als Zusatzstoffe bewährt.^{1, 13} Die Photochromie wird von weiteren Faktoren beeinflusst, auf die in Kapitel 5.5 näher eingegangen wird.

Der Inkjetdruck unterscheidet sich in seinen Anforderungen von den Druckmethoden, für die bisher PM-Druckfarben entwickelt wurden. Zum Beispiel ist die Schichtdicke, die im Inkjetdruck aufgetragen wird, wesentlich geringer als im Sieb- oder Tampondruck. Die Trocknung des Farbauftrages erfolgt bei den dickeren Schichten dieser Druckmethoden vor allem durch Verdunstung des Lösungsmittels. Im Inkjetdruck verläuft die Trocknung beim Bedrucken von porösen Materialien wie

Papier hauptsächlich über Absorption des Lösungsmittels. Durch die Absorption des Lösungsmittels in den Träger bleiben darin gelöste Stoffe nur teilweise in der Farbschicht. Die Photochromiehilfsstoffe müssen deswegen in höherer Konzentration zugegeben werden.

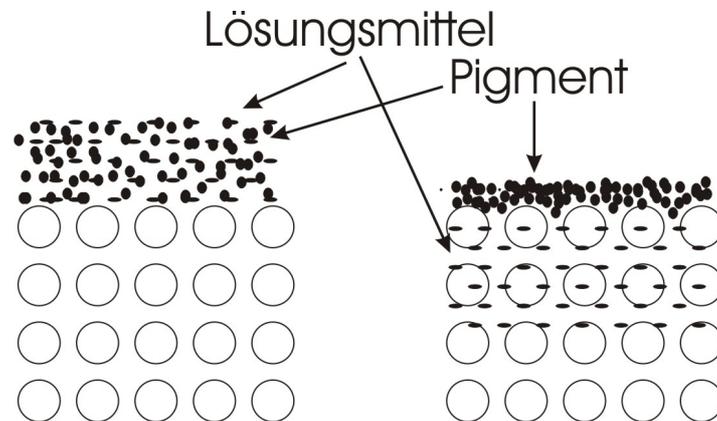


Abbildung 34: Absorption des Lösungsmittels einer pigmentierten Tinte in einen porösen Träger.³³

Durch die für Inkjetttinten erforderliche niedrige Viskosität sind der Pigmentierung enge Grenzen gesetzt. So hat eine PM-Suspension mit 11 g/100g PM schon eine Viskosität über dem verdruckbaren Bereich, während Siebdruckfarben leicht mit einer Pigmentierung von 20 g/100g hergestellt werden können.¹

Die Einstellung der erforderlichen niedrigen Oberflächenspannung erfolgt bei Inkjetttinten üblicherweise über Tenside. Der Einsatz von Tensiden ist bei der Anwendung des Membranproteins BR ein kritischer Bereich, konnte aber, wie in Kapitel 4 gezeigt, im Rahmen dieser Arbeit gelöst werden.

Wie in Kapitel 3.2.1 beschrieben werden an Inkjetttinten eine ganze Reihe von Qualitätsanforderungen gestellt. Möglichkeiten die Qualität von Inkjetttinten zu beeinflussen sind in über tausend Patenten beschrieben. Diese Vielfältigkeit an Möglichkeiten wird durch die Verwendung der PM als Pigment stark eingeschränkt. Die biologische Funktion des BRs als lichtgetriebene Protonenpumpe und der damit verbundene für die technische Anwendung als photochromes Pigment interessante Farbwechsel ist an die Tertiärstruktur des BRs gebunden.^{62, 63} Viele Substanzen, die für das Design von Inkjetttinten beschrieben werden, zerstören die Tertiärstruktur des BRs und damit seine Funktion. Aus diesem Grund ist für diese Arbeit das Wissen über die Verträglichkeit von BR mit verschiedenen Lösungsmitteln grundlegend. Im folgenden Kapitel werden die zu diesem Thema durchgeführten Arbeiten von EISENBACH et al.^{64, 65} vorgestellt.

5.1 Lösungsmittelverträglichkeit von Bakteriorhodopsin

Bakteriorhodopsin ist als zweidimensionales Gitter umgeben von Lipidmolekülen in der PM eingebettet. In membranintegrierter Form ist das BR extrem stabilisiert und im Vergleich zu anderen Proteinen weitgehend tolerant gegenüber chemischen und physikalischen Einflüssen.¹¹

Wird der kristalline Verband durch Solvatation gelöst, so verliert das Protein nicht nur seine hohe Stabilität und die Tertiärstruktur, sondern meist auch seine Funktion als lichtgetriebene Protonenpumpe und die damit verbundene Photochromie geht verloren. Bei einer Anwendung des BRs als Pigment muss aus diesem Grund der kristalline Verband in Form der PM erhalten bleiben.

BR ist so in die Membran integriert, dass fast alle hydrophoben Polypeptidsegmente sich innerhalb der Membran befinden.²⁷ Nach MITAKU⁶⁶ wird die Tertiärstruktur weitgehend durch Wasserstoffbrücken- und Ionenpaarbindungen zwischen den α -Helices stabilisiert. Stark hydrophobe oder hydrophile Lösungsmittel denaturieren BR allgemein nicht. Hydrophile Lösungsmittel wie Wasser oder Glycerin können in die hydrophobe Membran des BRs nicht eindringen und hydrophobe Lösungsmittel können Wasserstoffbrückenbindungen oder ionische Wechselwirkungen nicht lösen. Ambivalente Lösungsmittel wie Alkohole, Ether, Ester oder Aldehyde können ab einer kritischen Konzentration von 1-3 M relativ unabhängig von der C-Kettenlänge die Wasserstoffbrückenbindungen und damit die Tertiärstruktur des BRs auflösen.⁶⁶

Beim Auflösen der Tertiärstruktur des BRs erfolgt meist die irreversible Freisetzung des Chromophores Retinal unter Verlust des Opsinshifts. Zu beobachten ist dies als irreversibler Farbwechsel von lila nach gelb. Ein eindeutiger, irreversibler Farbwechsel von lila nach gelb kann als sicheres Kriterium für eine Denaturierung angesehen werden. Erfolgt nach Zugabe einer Substanz zu einer BR-Suspension nur eine schwache oder langsame Farbänderung, so kann ein Abbau durch zeitlich aufeinander folgende UV-Vis-Messungen gut beobachtet werden.

Umfassende Untersuchungen zur Kompatibilität von Lösungsmitteln mit BR wurden von EISENBACH et al.^{64, 65} durchgeführt. Die Einordnung der Lösungsmittel erfolgte über den Löslichkeitsparameter, der auf der Kohäsionsdichte der Flüssigkeit beruht, die sich wiederum aus der Verdunstungsenthalpie und dem molaren Volumen des Lösungsmittels ergibt:

$$\delta = \sqrt{e} = \sqrt{\frac{E}{\bar{V}}} = \sqrt{\frac{\Delta H - RT}{\bar{V}}} \text{ (MPa)} \quad (14)$$

- δ Löslichkeitsparameter
- e Kohäsionsenergiedichte
- \bar{V} molares Volumen
- E Kohäsionsenergie
- ΔH Verdunstungsenthalpie
- R Gaskonstante
- T absolute Temperatur

Der Löslichkeitsparameter kann nach HANSEN in unterschiedliche Bestandteile zerlegt werden:

$$\delta^2 = \delta_d^2 + \delta_p^2 + \delta_h^2 \quad (15)$$

- δ Löslichkeitsparameter
- δ_d Löslichkeitsparameter bezüglich der Dispersionskräfte (London-WW)
- δ_p Löslichkeitsparameter bezüglich der polaren Kräfte
- δ_h Löslichkeitsparameter bezüglich der Wasserstoffbrückenbindungskräfte

Zu den einzelnen Werten fehlt ein direkter messtechnischer Zugang, sie sind jedoch über den Brechungsindex, das Dipolmoment und die Verdunstungsenthalpie der Flüssigkeit zugänglich. Diese Parameter wurden für eine Vielzahl von Lösungsmitteln bestimmt.⁶⁷

Um eine zweidimensionale Auftragung zu erhalten wurden von EISENBACH die Parameter δ_d und δ_p zu δ_v zusammengefasst.

$$\delta_v = \sqrt{\delta_d^2 + \delta_p^2} \quad (16)$$

- δ_v Löslichkeitsparameter der van der Waals Interaktionen
- δ_d Löslichkeitsparameter bezüglich der Dispersionskräfte (London-WW)
- δ_p Löslichkeitsparameter bezüglich der polaren Kräfte

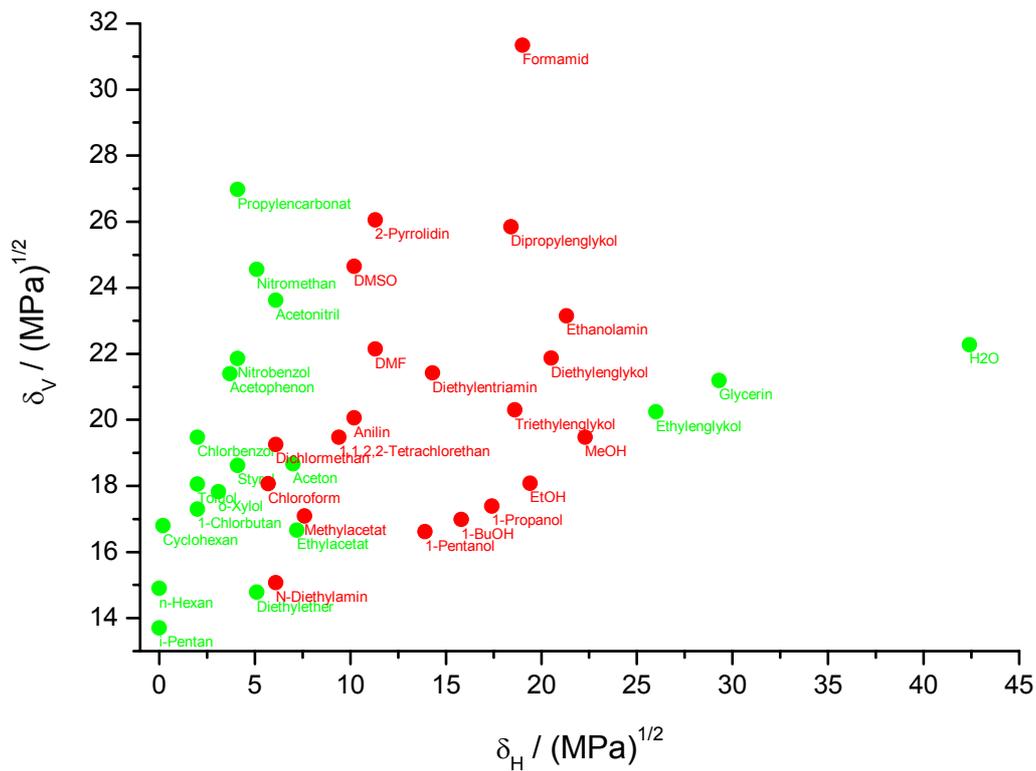


Abbildung 35: Diagramm der Lösungsmittelkompatibilität von BR nach EISENBACH und CAPLAN erstellt von T. FISCHER² (kompatible Lösungsmittel sind grün, inkompatible rot dargestellt).

Nach dieser Einordnung kann über die Verträglichkeit von BR mit Lösungsmitteln oder Lösungsmittelgemischen eine Einschätzung getroffen werden. Außerhalb des kritischen Bereiches von ca. $\delta_h = 5 (\text{MPa})^{0,5}$ bis ca. $\delta_h = 25 (\text{MPa})^{0,5}$ wird BR selten denaturiert.

Diese Untersuchungen wurden in reinen Lösungsmitteln durchgeführt. Wird Wasser zu diesen Lösungsmitteln gegeben so zeigt sich ein anderes Verhalten. BR wird von einigen Lösungsmitteln, die es in reiner Form nicht denaturieren, bei Anwesenheit geringer Mengen Wasser denaturiert. Gegen andere in reiner Form denaturierend wirkende Lösungsmittel ist BR in wässrigen Lösungen bis zu bestimmten Konzentrationen stabil.

5.2 Piezo-Druckkopf

Die Entwicklung von Inkjetzinten ist eng an den Druckkopf gekoppelt. Eingesetzt wurde der Druckkopf Spectra[®] Nova PH 256/80 AAA (Nova/Spectra, Lebanon, NH).

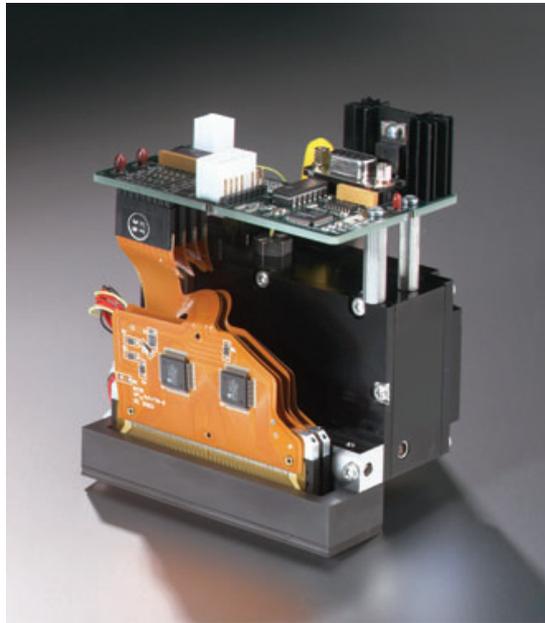


Abbildung 36: Der Druckkopf Spectra[®] Nova PH 256/80 AAA .⁶⁸

Ausgewählte technische Daten des Druckkopfes sind in der folgenden Tabelle dargestellt:⁶⁸

Tabelle 2: Ausgewählte technische Daten des Druckkopfes Spectra[®] Nova PH 256/80 AAA.

Anzahl der Düsen	256
Düsenabstand	279 μm
Düsendurchmesser	52 μm
kalibrierte Tropfengröße	75 pL
Variation der Tropfengröße	5%
Gradheit der Düsen	0.23°
nominale Tropfengeschwindigkeit	8 m/sec
Arbeitstemperatur	bis zu 90°C
Viskosität	8 - 28 mPa·s
kompatible Lösungsmittel	Wasser, organische Lösungsmittel, UV härtende Tinten
Maximale Arbeitsfrequenz	20 kHz
Tintenfilter	8 μm
anliegendes Vakuum	750 mBar

Der Druckkopf wurde zur x-y-z-Positionierung in die Isel-CNC-Kompakt-Flachbettanlage (Isel-Automation, Eiterfeld) eingebaut. Die Steuerung der Anlage erfolgte über ein mit Labview 8.1 (National Instruments, Austin, USA) geschriebenes Programm.

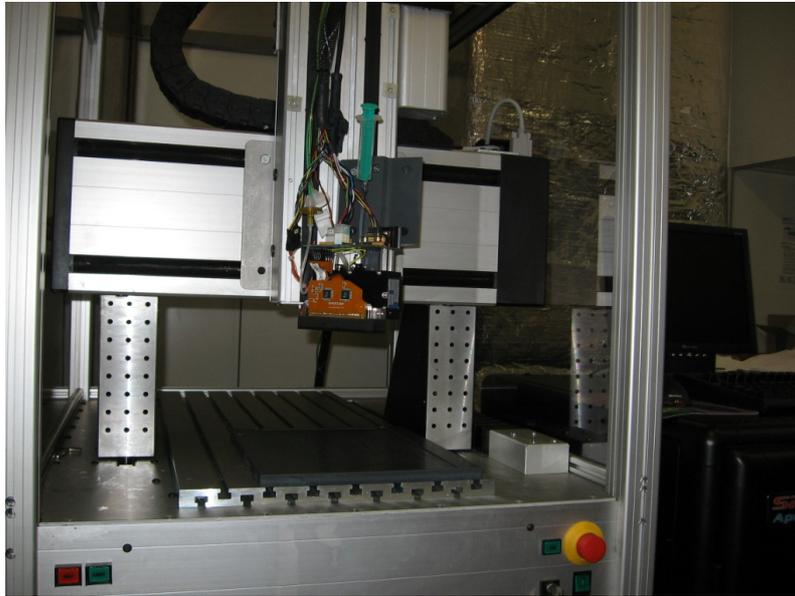


Abbildung 37: In Isel-CNC-Kompakt-Flachbettanlage eingebauter Druckkopf.

Der Druckkopf ist in einem Winkel von 63° an die Isel-CNC-Kompakt-Flachbettanlage angebracht. Durch den Winkel wird das Druckraster kleiner. Für einen flächigen Druck muss die Tropfengröße etwas größer sein als das Druckraster, da sich die Größe (5%) und der Auftreffpunkt der Tropfen (Gradheit der Düsen $0,23^\circ$) immer innerhalb eines gewissen Bereiches unterscheiden. Ist das Druckraster etwas kleiner als die Tropfengröße, so fallen diese Unterschiede nicht auf.

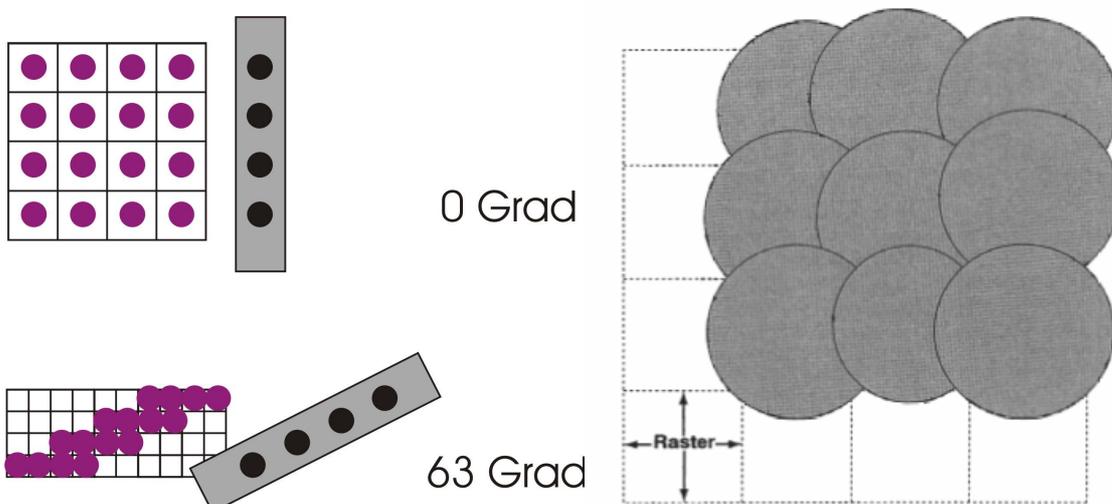


Abbildung 38: Links: Verkleinerung des Druckgitters bei einem Winkel von 63° .
Rechts: Darstellung der normalen Abweichungen beim Inkjetdruck.³²

5.3 Entwicklung von PM-Inkjetttinten

Im Folgenden sind die Inhaltsstoffe aufgelistet, die einer Inkjetttinte zugesetzt werden können.

- Farbmittel
- Lösungsmittel
- Tenside
- Co-Lösungsmittel
- Feuchthaltemittel
- Viskositätsaktiva
- Dispergiermittel
- Durchdringungsmittel
- Fixiermittel
- Puffer
- Biozide
- UV-Blocker
- Radikalfänger
- Antioxidantien
- Entschäumer

Die ersten Entwicklungen von PM-Inkjetttinten beschränkten sich auf die Inhaltsstoffe Farbmittel, Lösungsmittel, Colösungsmittel und Tensid. Die Rezepte wurden schrittweise um weitere Inhaltsstoffe ergänzt. Die Suche nach geeigneten Inhaltsstoffen für die Herstellung von PM-Inkjetttinten orientierte sich an den allgemeinen Beschreibungen der Inkjettechnologie aus zahlreichen Patenten.^{34, 38, 59, 70, 71, 72, 74, 75, 77} Es stellte sich heraus, dass viele Chemikalien, die zur Herstellung von Inkjetttinten üblicherweise eingesetzt werden die PM denaturieren. Die Möglichkeiten eine Inkjetttinte mit PM als Pigment herzustellen sind aus diesem Grund gegenüber der Entwicklung herkömmlicher Tinten stark eingeschränkt. Es wurden zahlreiche Versuche über die Verträglichkeit verschiedener Inhaltsstoffe mit BR durchgeführt. Die Ergebnisse werden im Folgenden vorgestellt.

Farbmittel

Das Farbmittel, ein Farbstoff oder Farbpigment, gibt einer Tinte ihre primäre Funktion. Bei photochromen Tinten zeigt das Farbmittel nicht nur eine Absorption bei einer bestimmten Wellenlänge, sondern auch einen lichtinduzierten Farbwechsel.

Als photochromes Farbpigment wurde PM mit der BR-Mutante D₉₆N eingesetzt. Diese Mutante zeichnet sich durch eine längere Lebensdauer des M-Zustandes aus. Es können prinzipiell auch BR-Wildtyp oder andere BR-Mutanten verdruckt werden.

Lösungsmittel

Das Lösungsmittel ist der Träger für das Farbmittel und der sonstigen Inhaltsstoffe. Zur Herstellung von PM-Inkjetttinten wurde Wasser als Lösungsmittel verwendet.

Tensid

Tenside werden zugesetzt um die Oberflächenspannung herabzusetzen und die Benetzbarkeit der Tinte zu verbessern. In dieser Arbeit wurde als Tensid, nach den in Kapitel 4 vorgestellten Untersuchungen, das Fluortensid Zonyl® FSN 100 eingesetzt.

Colösungsmittel

Colösungsmittel werden zugegeben, um die Eigenschaften einer Tinte zu verbessern. Meist werden Inkjetttinten Glycerin, Glykole und/oder Glykolether als Colösungsmittel zugegeben. Glykole und Glykolether verbessern nicht nur die Löslichkeit der meisten Inhaltsstoffe, sondern bestimmen die Trocknungs- und Verlaufseigenschaften der Tinte auf dem Medium maßgeblich.⁶⁹ Die Druckqualität wird dadurch entscheidend beeinflusst. Zusätzlich verhindern sie, in ausreichender Konzentration zugesetzt, das Eintrocknen der Tinte in den Druckdüsen.

Glykolether können PM-Inkjetttinten nicht zugesetzt werden, da sie auch in geringen Konzentrationen von 1-2 g/100g zu einem schnellen Denaturieren des BRs führen.

Der Einsatz von Glykolen in Inkjetttinten ist in vielen Patenten beschrieben. Es werden vor allem Alkylenglykole mit 2-6 Kohlenstoffatomen (Ethylenglykol bis Hexylenglykol), die Polyalkylenglykole (Diethylenglykol, Dipropylenglykol, Tripropylenglykol) und Polyethylenglykol 200 und 600 genannt.⁷⁰ Polyglykole wirken in Reinform ebenfalls denaturierend auf die BR, einige können jedoch verdünnt (<10%) zugesetzt werden. Wird z.B. Dipropylenglykol in geringen Konzentrationen PM-Inkjetttinten zugesetzt, so verbesserte sich das Druckbild, es kommt jedoch beim Trocknungsprozess, abhängig von der Trocknungszeit, zu einem Abbau des BRs. Trocknet die Tinte durch Verdunstung des Lösungsmittels auf dem Medium, so wird Dipropylenglykol aufkonzentriert und ab einem Zersetzungspunkt wird BR denaturiert. Je langsamer die Tinte trocknet, desto mehr BR wird denaturiert. Auf stark saugenden Materialien, bei denen die Tinte durch Absorption trocknet kann Dipropylenglykol in geringen Konzentrationen zugesetzt werden.

BR ist gegen Glycerin und Ethylenglykol stabil. Bei Zusatz von Ethylenglykol zu PM-Inkjetttinten konnte jedoch kein befriedigendes Druckergebnis erreicht werden.

Gute Druckergebnisse können durch den Zusatz von Glycerin zu PM-Inkjetttinten erzielt werden. Glycerin hat aber auch Nachteile:

- Aufgrund seiner hohen Viskosität kann es nur zu einem gewissen Anteil Inkjetttinten zugesetzt werden.⁷¹
- In hohen Konzentrationen zugesetzt (> 40g/100g) verursacht es ein Verlaufen der Tinte entlang der Papierfasern und erhöht die Trocknungszeit.⁷²
- Durch hohe Konzentrationen an Glycerin wird die Satellitenbildung begünstigt.⁷¹

Glycerin beeinflusst zusätzlich die Geschwindigkeit des Photozyklus⁷³ und die Absorption des BRs. Im folgenden Spektrum ist die Absorption von BR in reinem Glycerin im Vergleich zur Absorption in Wasser gezeigt.

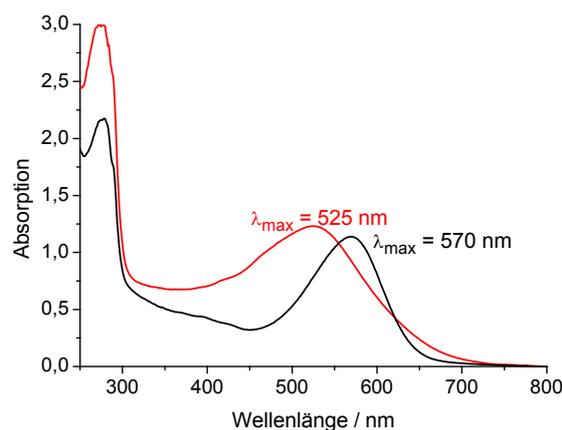


Abbildung 39: Hypsochromer Shift von BR in Glycerin (Rot) im Vergleich zu einer wässrigen PM-Suspension (Schwarz).

Als weiteres Colösungsmittel wurde Isopropanol getestet, es verringert in Konzentrationen bis 5 g/100g zugesetzt die Trocknungszeiten der Tinten. Es hat sich jedoch als nicht anwendbar erwiesen.

Als Colösungsmittel ist Glycerin das Beste, aufgrund seiner Nachteile muss es jedoch mit bedacht eingesetzt werden.

Feuchthaltemittel

Feuchthaltemittel verhindern das Eintrocknen von Farbe während Druckpausen in den Drückdüsen. Verdunstet das Wasser der Tinte aus den Düsen, so bildet sich eine Kruste aus Farbmittel und anderen Inhaltstoffen der Tinte, die die Düsen verstopft. Dieses Phänomen tritt bei pigmentierten Inkjetttinten verstärkt auf und die Druckdüsen werden selten wieder von alleine frei. In Abbildung 40 ist der Ausdruck einer PM-Inkjetttinte ohne Feuchthaltemittel nach einer 5 Minuten dauernden Druckpause zu sehen. Die Jets ließen sich zwar noch frei drucken, jedoch entstand ein schlechtes Druckbild.

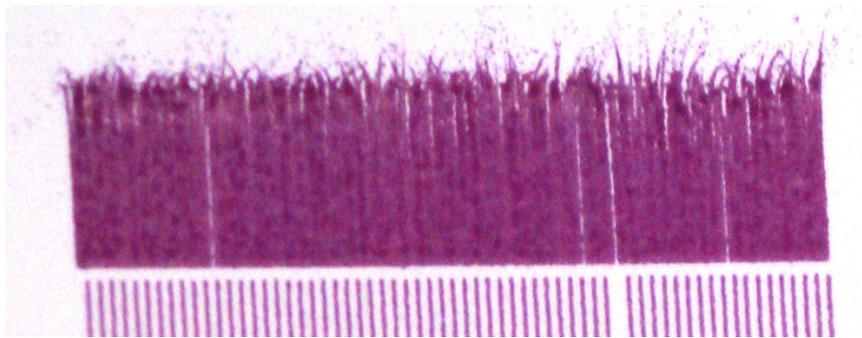


Abbildung 40: Druckbild mit eingetrockneten Druckdüsen nach 5 Minuten Druckpause einer PM-Inkjetttinte ohne Feuchthaltemittel.

Feuchthaltemittel können hygroskopische Substanzen oder Flüssigkeiten mit einem niedrigen Dampfdruck, wie Glycerin, Glykole oder Glykolether sein.⁷⁴

Der Einsatz von Glycerin, Glykolen oder Glykolethern wurde unter den Colösungsmitteln schon diskutiert. Als für den Inkjetdruck geeignete hygroskopische Substanzen sind in der Literatur folgende zu finden:

- 1,6-Hexandiol^{75, 76}
- N-Methyl-2-pyrrolidon^{75, 76}
- ϵ -Caprolactam⁷⁶
- Harnstoff^{76, 77}

1,6-Hexandiol und ϵ -Caprolactam denaturieren BR in Konzentrationen von 20% über einen Zeitraum von 48 Stunden deutlich. Bei Harnstoff und N-Methyl-2-pyrrolidon war bei diesen Konzentrationen kein Abbau zu beobachten. Mit diesen Substanzen wurden Tinten hergestellt. Diese Tinten waren in Lösung stabil, beim Verdrucken kam es jedoch zur Denaturierung des BRs.

Es konnte kein geeignetes Feuchthaltemittel für eine PM-Inkjetttinte gefunden werden, so dass diese Funktion nur von Glycerin in Konzentrationen $> 15 \text{ g}/100\text{g}$ erfüllt werden kann.

Fixiermittel

Fixiermittel verbessern die Schmierfestigkeit, Wasserechtheit und Lichtechtheit von Inkjetttinten. Zum Bedrucken von nicht-saugenden Materialien sind Fixiermittel ein unerlässlicher Bestandteil, zum Bedrucken von saugenden Materialien sind sie nicht notwendig, können aber die Eigenschaften der verdruckten Farben verbessern.

Als Fixiermittel wurden folgende Polymere getestet: Polyethylenimin, Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon und Polyacrylamid. Der Einsatz von Polyvinylalkohol wurde mit Polymeren unterschiedlichen Molekulargewichtes und unterschiedlichem Acetylierungsgrad getestet ohne befriedigende Ergebnisse zu erhalten. Bei Zugabe von Polyethylenimin agglomeriert BR. Polyethylenimin ist somit für den Einsatz in Tinten ebenfalls nicht geeignet. Als besonders geeignet für die Herstellung von PM-Inkjetttinten hat sich Polyvinylpyrrolidon ($M_w = 10000$) und Polyacrylamid ($M_w = 1500$) erwiesen.

Entschäumer

Entschäumer helfen die Schaumbildung beim Drucken zu kontrollieren. Bei der Verwendung von Fluortensiden, die Schäume stabilisieren, ist der Einsatz eines Entschäumers unerlässlich. Es hat sich der Entschäumer Antifoam A (Sigma-Aldrich, Taufkirchen) bewährt.

Biozid

Wasser als Medium begünstigt das Wachstum von Mikroorganismen, durch den Zusatz von BR wird das Wachstum von Mikroorganismen noch verstärkt. Um eine Stabilität der PM-Inkjetttinten über einen Zeitraum von 24 Stunden zu gewährleisten, muss ein Biozid, wie z.B. Mergal[®] K9N (Riedel-de Haën, Seelze) zugesetzt werden.

Photochromiehilfsstoffe

Um das Schaltverhalten von BR-D₉₆N einzustellen, können organische Amine, Ammoniumverbindungen, Peptide und Aminosäuren sowie deren Derivate zugesetzt werden.¹³ Als besonders geeignet haben sich zur Verlängerung der Lebensdauer des

M-Zustandes Arginin und Betain erwiesen. Um die Klimaabhängigkeit des photochromen Verhaltens zu verringern können den Farben hygroskopische Substanzen zugesetzt werden. Als besonders geeignet hat sich Natriumacetat gezeigt.

Folgende Inhaltsstoffe wurden den Tinten nicht zugesetzt:

Viskositätsaktiva

Die Viskosität von Inkjetttinten kann gut über den Gehalt an PM eingestellt werden, so dass spezielle Viskositätsaktiva nicht benötigt werden.

Dispergiermittel

Dispersionen mit PM sind relativ stabil, ein Dispergiermittel wurde deshalb im Rahmen dieser Arbeit nicht benötigt. Für eine technische Anwendung der PM-Inkjetttinte sollte jedoch die Langzeitstabilität der Farbdispersionen über ein Dynometer bestimmt werden.

Lichtschutzmittel

UV-Blocker, Radikalfänger und Antioxidantien erhöhen die Lichtstabilität der Drucke. Aufgrund von Löslichkeitsproblemen konnten diese den Inkjetttinten bisher nicht zugesetzt werden.

5.4 Prozessierung der PM-Inkjetttinten

Oberflächenspannung

Inkjetttinten können in dem verwendeten Druckkopf mit einer Oberflächenspannung von 30-55 mN/m verdruckt werden. Die Einstellung der Oberflächenspannung erfolgte mit dem Tensid Zonyl® FSN 100 und wurde über Messungen nach der Pendant Drop Methode kontrolliert.

Viskosität

Die Inkjetttinten benötigen zum Verdrucken eine Viskosität im Bereich von 10-28 mPa·s. Die Viskosität der Tinten kann über den Pigmentierungsgrad mit PM sehr gut eingestellt werden. Gleichzeitig gibt die Viskosität die maximale Pigmentierung der Tinten vor. Eine PM-Suspension mit einer Pigmentierung von 11 g/100g hat schon eine Viskosität, die über dem verdruckbaren Bereich liegt, so dass ca. 10 g/100g an PM der maximalen Pigmentierung entsprechen. Die hergestellten PM-Inkjetttinten orientierten am obersten prozessierbaren Viskositätsbereich, um eine maximale Pigmentierung zu erreichen. Es konnten Tinten mit einer Pigmentierung von 6,8 g/100g PM hergestellt werden.

PM-Suspensionen zeigen allgemein ein scherverdünnendes bzw. pseudoplastisches Verhalten, d.h. die Scherviskosität nimmt mit steigender Belastung ab.

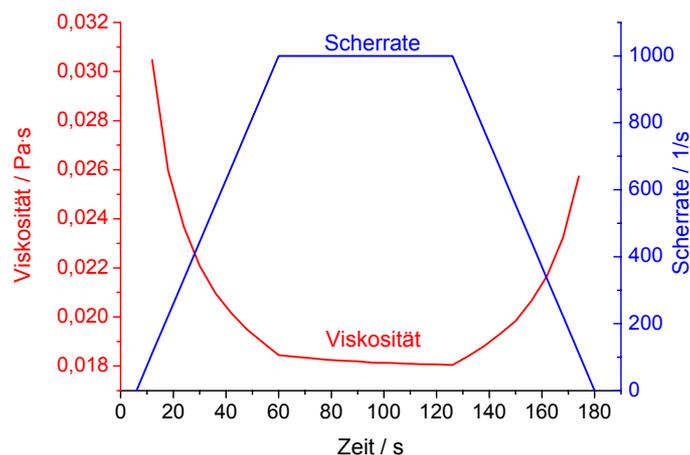


Abbildung 41: Viskositätsverlauf einer PM-Inkjetttinte mit pseudoplastischem Verhalten.

Dieses Verhalten ist bei Inkjetttinte unerwünscht, da sich die Tintenkanäle über Kapillarkräfte füllen und dabei nur einer geringen Scherbelastung unterliegen. Durch Zugabe von Arginin und Natriumacetat kann die Viskosität von PM-Suspensionen

beeinflusst und das pseudoplastische Verhalten unterdrückt werden. Abbildung 42 zeigt die Viskosität einer PM-Inkjetttinte, die Arginin und Natriumacetat enthält.

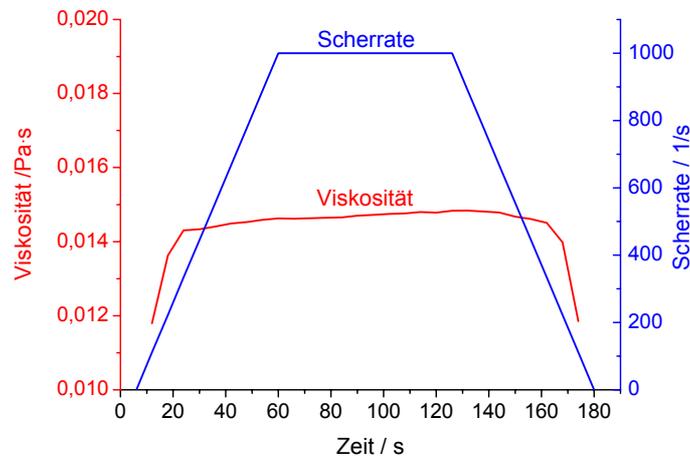


Abbildung 42: Viskositätsverlauf einer PM-Inkjetttinte ohne pseudoplastisches Verhalten.

Die Viskosität kann auch mit Arginin und Betain als Zusatzstoff entsprechend beeinflusst werden. Der folgende Graph zeigt eine beträchtliche Verringerung der Viskosität nach Zugabe von Betain als Feststoff zu einer PM-Inkjetttinte mit Arginin von $D_{1000} = 102 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ nach $D_{1000} = 72 \text{ mPa}\cdot\text{s}$. Zusätzlich ist eine Abnahme des pseudoplastischen Verhaltens zu beobachten, dass sich bei weiterer Verdünnung der Tinte auf eine Viskosität von $<28 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ vollständig verliert.

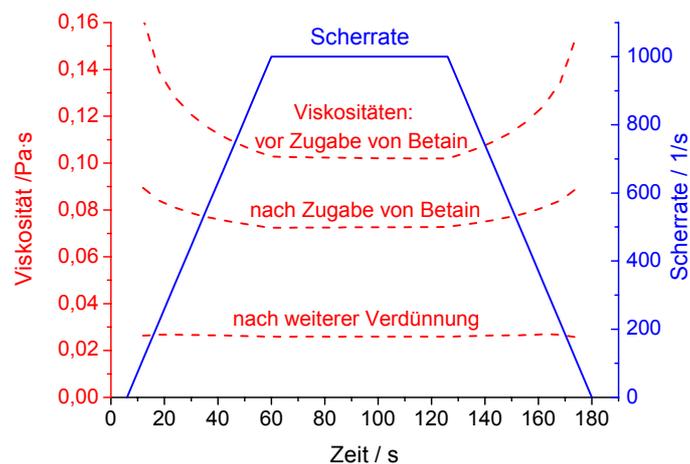


Abbildung 43: Viskosität einer Farbe vor und nach Zugabe von Betain.

Im basischen Bereich und bei der zusätzlichen Zugabe von Betain oder Natriumacetat zu einer PM-Suspension tritt das pseudoplastische Verhalten nur noch vermindert oder nicht mehr auf. Es kommt unter diesen Bedingungen zu einer

Änderung der Kräfte zwischen den PM-Sheets, was an einer Veränderung der Oberflächenladung von BR liegen könnte. BR besitzt von Natur aus eine geladene Oberfläche,⁷⁸ die im basischen Bereich durch die Zugabe ionischer Verbindungen soweit ausgeglichen werden könnte, dass die PM-Sheets leichter aneinander vorbeigleiten.

Homogenisierung

Die PM-Fragmente liegen je nach Zucht- und Aufarbeitungsbedingungen in einer polymodalen Teilchenmischung von 100 nm bis 1 µm vor. Ein Verfahren um eine einheitliche Teilchengrößenverteilung zu gewährleisten stellt die Behandlung mit der Ultraschallsonde vom Typ Sonifier W-450D (Branson, Danbury, USA) dar. Die Tinten wurde zur Homogenisierung nach einer von T. FISCHER entwickelten Standardmethode (1 s Schallintervall, 5 s Pausenintervall, 25 % Amplitude, 1 min Gesamtschallzeit) im Eisbad behandelt.²

Dispergierung

Zur reproduzierbaren Herstellung von PM-Inkjetttinten muss die Dispergierung der gefriergetrockneten PM beachtet werden. Je nach Qualität der Dispergierung kann sich die Viskosität von PM-Suspension beträchtlich unterscheiden. So unterscheiden sich die Viskositäten von PM-Suspension je nachdem, ob Wasser in einem oder in mehreren Schritten zugegeben wird (Abbildung 44).

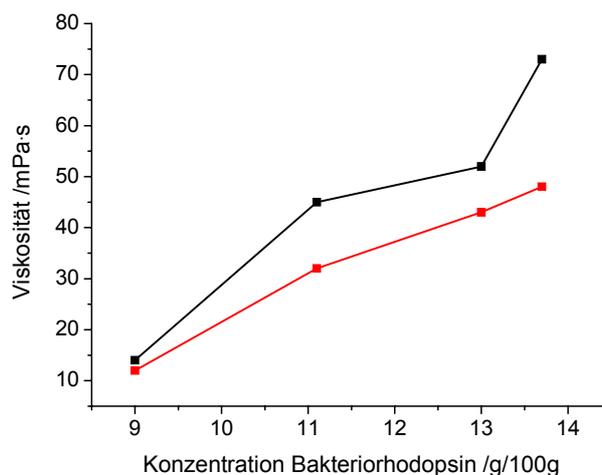


Abbildung 44: Viskositätsunterschiede durch unterschiedliche Prozessierung.
Schwarz: Wasser wurde in einem Schritt zur gefriergetrockneten PM gegeben und 2,5 Stunden gerührt.
Rot: Wasser wurde unter rühren in fünf Schritten jede halbe Stunde zur lyophilisierten PM gegeben.

Bei der Herstellung dieser PM-Suspensionen wurde ein zylindrisches Magnetührstäbchen verwendet, das nicht ausreicht um die lyophilisierte PM unter unterschiedlichen Bedingungen gleichmäßig zu dispergieren. Wird ein sternförmiges, kantiges Magnetührstäbchen eingesetzt, so lassen sich PM-Suspensionen durch den höheren Eintrag an Scherkräften reproduzierbarer herstellen. Hierbei muss jedoch beachtet werden, dass die PM empfindlich gegen Scherkräfte ist und zerstört werden kann.

Der Einfluss unterschiedlicher Dispergierungsverfahren auf die Viskosität von PM-Suspensionen wurde nicht weiter untersucht, stattdessen wurde bei der weiteren Druckfarbenentwicklung die PM als konzentrierte Suspension eingesetzt, so dass der Dispergierungsschritt entfällt.

Die Herstellung der konzentrierten PM-Suspension erfolgte durch zweimaliges Abzentrifugieren der von der Arbeitsgruppe Prof. OESTERHELT bereitgestellten Suspensionen mit 10.000 rpm, 1 h mit der Sorvall-Zentrifuge (Thermo Scientific, Watham, USA). Auf diese Weise konnten Suspensionen mit einer OD von 90-110 gewonnen werden.

Die Verarbeitung der PM als Suspension hat mehrere Vorteile, der Gefriertrocknungs- und Dispergierungsschritt entfällt und durch das zweimalige Abzentrifugieren wird die PM weiter aufgereinigt. Die Verwendung von besonders reiner PM ist vor allem bei der Herstellung von Inkjetttinten relevant, da diese mit ca. 5 g/100g nur zu einem geringen Anteil pigmentiert werden.

5.5 Einflussfaktoren auf die Photochromie von Bakteriorhodopsin

Die Photochromie von Bakteriorhodopsin wird durch zwei Zustände charakterisiert, den B- und den M-Zustand. Das Absorptionsmaximum von B₅₇₀ liegt im gelben Bereich des sichtbaren Spektrums mit $\lambda_{\text{max}} = 570$ und wird als Komplementärfarbe Lila wahrgenommen. Für M₄₁₀ mit $\lambda_{\text{max}} = 410$ nm ergibt sich eine gelbe Farbe.

Die Qualität der Photochromie wird von Faktoren wie der Lichtintensität, Lichtquelle, Temperatur, Protonenverfügbarkeit und Feuchtigkeit beeinflusst. Die Einstellung der Photochromie über Photochromiehilfsstoffe sollte so erfolgen, dass sie unter normalen Bedingungen und üblichen Lichtquellen hervorragende Ergebnisse liefert.

Lichtintensität

Als photochemischer Prozess hängt die Photochromie von BR natürlich von der Intensität der Lichtquelle ab. In Abbildung 45 ist die Bleichkinetik eines Fünffach-Druckes einer PM-Tampondruckfarbe auf Glossypapier bei verschiedenen Beleuchtungsstärken aufgetragen. Ab einer Beleuchtungsstärke von 9000 Lux verläuft der Photozyklus bei diesen Druckfarben so schnell, dass eine weitere Erhöhung der Strahlungsintensität keine sichtbare Beschleunigung der Bleichgeschwindigkeit mehr bringt.

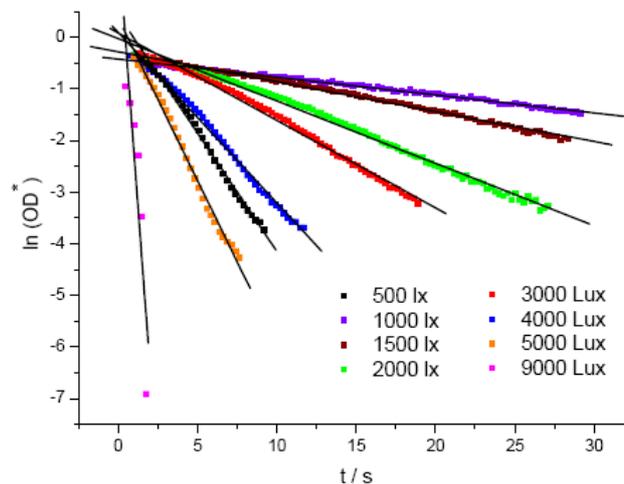


Abbildung 45: Bleichkinetik eines Fünffach-Druckes einer BR-Tampondruckfarbe auf Glossypapier bei verschiedenen Beleuchtungsstärken (Halogenlampe, 60% rLF, Detektion bei $\lambda = 570$ nm) (erstellt von T. FISCHER).²

Für eine Anwendung der Druckfarben sollte die Photochromie unter normalem Umgebungslicht (700-1500 Lux) oder dem Licht Glühlampe (2000 Lux) möglichst gut sichtbar sein. Die Beleuchtungsstärke wurde am Probenort mit Hilfe eines Luxmeters vom Typ Light Meter PeakTech 5025 (Heinz-Günter Lau, Ahrensburg) bestimmt.

Lichtquelle

Die Geschwindigkeit des Bleichvorganges ist nicht nur von der Beleuchtungsstärke abhängig, sondern auch von der Intensitätsverteilung der Lichtquelle. Die Schaltung zwischen den zwei Zuständen erfolgt durch Bestrahlung mit Licht im Bereich der jeweiligen Absorptionsmaxima. Besonders geeignet zum Schalten in den M-Zustand ist Sonnenlicht, da BR evolutionär auf diese Lichtquelle optimiert ist. Als künstliche Lichtquellen eignen sich zum Schalten am besten Leuchtdioden mit einer Emission im Bereich der Absorptionsmaxima der beiden Zustände. Durch Bestrahlung mit einer breitbandigen Lichtquelle kann sich je nach Lebensdauer des M-Zustandes ein Gleichgewicht zwischen beiden Zuständen einstellen, dass als Brauntön (Mischfarbe zwischen Lila und Gelb) wahrgenommen wird. Gerade Xenonlicht besitzt einen hohen Anteil blauen Lichtes, so dass sich bei dieser Lichtquelle häufig ein Gleichgewicht zwischen den beiden Zuständen einstellt.

Temperatur

Die Kinetik des thermischen Überganges vom M- zum B-Zustand wird naturgemäß von der Temperatur beeinflusst. Bei tiefen Temperaturen erfolgt der Übergang, wie in Abbildung 46 gezeigt, wesentlich langsamer. Die Lebensdauer $\tau_{1/e}$ ist das Zeitintervall, nachdem bis auf $1/e$ alle BR Moleküle wieder im B-Zustand vorliegen.⁷⁹

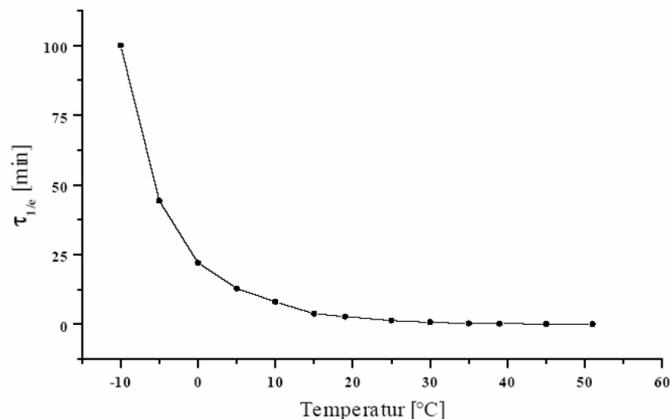


Abbildung 46: Lebensdauer $\tau_{1/e}$ eines BR_{D96N}-Films als Funktion der Temperatur (70% rLF, pH 9,5) (Abbildung erstellt von M. SANIO).⁷⁹

Im dem für eine Anwendung interessanten Temperaturbereich von 10-50°C zeigt die Lebensdauer $\tau_{1/e}$ nur eine sehr schwache Temperaturabhängigkeit, so dass bei normalen Temperaturen nahezu gleiche photochrome Eigenschaften zu erwarten sind. Für eine Anwendung kann die Temperaturabhängigkeit demnach vernachlässigt werden.

Feuchtigkeit

Wasser spielt eine große Rolle in der natürlichen Funktion des Bakteriorhodopsins. Gebundene Wassermoleküle sind am Protonentransport durch das BR-Molekül direkt beteiligt.⁸⁰ Die Kinetik des Photozyklus in PM-Filmen ist abhängig von der relativen Luftfeuchtigkeit (rLF), was sich auch auf die photochromen Eigenschaften auswirkt. Bei unterschiedlicher Feuchtigkeit sind verschiedene Effekte zu beobachten. Bei einer rLF <90 % wird das O-Intermediat des Photozyklus nicht mehr beobachtet. Die Bildung des M-Zustandes wird beschleunigt und der Zerfall verlangsamt.⁸¹ Bei im Vakuum getrockneten Proben hingegen zeigt das Spektrum von BR einen hypsochromen Shift zu 530 nm und der Photozyklus stoppt vor dem M-Zustand.⁸² Zum einen geht der Verlust an Feuchtigkeit mit einem Verlust der molekularen Flexibilität des BRs einher, zum anderen befinden sich, wie Neutronenbeugungsexperimente gezeigt haben in der Nähe der Chromophor-Bindungsstelle vier fest gebundene Wassermoleküle,⁸³ die zumindest teilweise am Photozyklus beteiligt sind. So ist es nicht verwunderlich, dass die Entfernung essentieller Wassermoleküle den Photozyklus und den Opsinshift des Bakteriorhodopsins beeinflusst. Unterhalb einer relativen Feuchtigkeit von 15% ist eine weitere reversible spektrale Veränderung zu beobachten, beobachtet wird ein Zustand mit einer Absorption bei $\lambda = 506 \text{ nm}$.⁸⁴

Von besonderer Bedeutung ist das Verhalten von Bakteriorhodopsin bei Feuchtigkeiten, die Raumluftbedingungen entsprechen. So wird Bakteriorhodopsin unterhalb einer Feuchtigkeit von 60% im M-Zustand von der extrazellulären Seite reprotoniert, der Protonentransport durch die Membran nimmt ab und der Zerfall des M-Zustandes verläuft schneller.⁸¹ Der schnellere Zerfall des M-Zustandes steht einer Anwendung der PM als photochromes Pigment entgegen und muss durch Zusatzstoffe entsprechend beeinflusst werden.

Es wurden Untersuchungen zur Abhängigkeit der Photochromie von der Feuchtigkeit durchgeführt. Der absolute Wassergehalt der Drucke lässt sich direkt nur schwer bestimmen, weshalb die relative Luftfeuchtigkeit angegeben wird, bei der die Probe klimatisiert wurde. Zu beachten ist, dass es sich bei Inkjetdrucken um dünne Farbschichten handelt, die direkt auf dem Papier aufliegen und von diesem beeinflusst werden, während Sieb- und Tampondrucke aus vergleichsweise dicken von dem Papier unabhängigen Farbschichten bestehen.

Protonenverfügbarkeit

Die Kinetik des thermischen Überganges aus dem M-Zustand in den B-Zustand und damit die Lebensdauer des M-Zustandes wird durch die Protonenverfügbarkeit bestimmt. Durch die Änderung des pH-Wertes hin zu basischen Werten kann die Protonenverfügbarkeit herabgesetzt werden. Im nativen BR sorgt die Aminosäure Asparaginsäure-96 für eine schnelle Reprotonierung der Schiff'schen Base. Durch gentechnischen Austausch der Asparaginsäure-96 gegen Asparagin wird die Reprotonierung der Schiff'schen Base bei hohem pH stark verlangsamt und die Lebensdauer des M-Zustandes soweit erhöht, dass BR für technische Anwendungen als photochromes Pigment in Frage kommt.

In Farbschichten kann die Lebensdauer des M-Zustandes nicht direkt durch den pH-Wert eingestellt werden, hier erfolgt die Einstellung durch Zugabe von basischen Zusatzstoffen. Es haben sich vor allem Amine wie Arginin bewährt. Durch Kombination von Arginin mit Natriumacetat oder Betain kann die Lebensdauer des M-Zustandes in Farbschichten gut eingestellt werden.

5.6 Herstellung vom PM-Inkjetttinten

Die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten PM-Inkjetttinten werden im Folgenden anhand der Drucke präsentiert. Von den Drucken wurden Photos nach einer Klimatisierung bei 80% relativer Luftfeuchtigkeit (rLF) mit einer Digitalkamera vom Typ EOS D60 (Canon, Amsterdam, NL) aufgenommen. Für die Aufnahme wurden die Drucke zur Darstellung der Photochromie mit zwei unterschiedlichen nebeneinander liegenden Farbfiltern, einen blauen ($\lambda_{\max} = 410$) und einen gelben (cut-on 550 nm), belichtet. Die Aufnahmen wurden durch Belichtungs-, Helligkeits- und Kontrastkorrektur nachbearbeitet.

Untersuchungen zur Klimaabhängigkeit und Kinetik der Photochromie werden bei der Vorstellung der Druckergebnisse diskutiert. Vor den jeweiligen Untersuchungen wurden die Drucke bei angegebener Luftfeuchtigkeit in einem Klimaschrank bei 30°C klimatisiert und nach der Klimatisierung 30 Minuten bei 2800 Lux helladaptiert.

Gedruckt wurde auf unbehandeltem (normalem) Papier und Glossypapier.

Die Entwicklung der PM-Inkjetttinten erfolgte zunächst ausgehend von der vor diesem Projekt entwickelten nicht photochromen Inkjetttinte auf Basis von Glycerin und Wasser. Bei dieser Tinte konnte eine Photochromie, wenn auch schwach, durch das Auftragen einer zweiten Schicht mit Photochromiehilfsstoffe erreicht werden.⁵²

In einem ersten Ansatz wurde zu dieser Rezeptur Arginin als Photochromiehilfsstoff hinzugefügt. Es konnte nur ein schwacher photochromer Effekt erreicht werden und bei der Herstellung dieser Farbe war eine Geruchsentwicklung bemerkbar. Es stellte sich heraus, dass dies auf den Abbau von BR durch das bisher eingesetzte Tensid Surfynol® CT-291 zurückzuführen ist (Kapitel 4.2.1). Nach den in Kapitel 4.2.2 vorgestellten Untersuchungen wurde dieses Tensid bei der Entwicklung weiterer Farben durch das Tensid Zonyl® FSN 100 ersetzt.

Glycerinbasierende Tinte

Im nächsten Schritt wurde eine weiterhin auf Glycerin basierende Tinte entwickelt. Die Tinte wurde unter anderem durch Zusatz von Dipropylenglykol auf ein möglichst gutes Druckbild optimiert und ließ sich auch auf unterschiedlichen Papieren (Glossypapier, normales Papier) mit gutem Ergebnis verdrucken, d.h. ohne Bildung von Satteliten und mit einem gleichmäßigen Eindringverhalten. Sie zeigte weiterhin eine bessere Farbstärke und bessere Photochromie als bisherige Tinten. Die

Photochromie, die nach dem Drucken unter Beleuchtung deutlich sichtbar war, verblasste mit der Zeit und war nach 4 Wochen nur noch durch Klimatisieren bei 80% rLF wieder herstellbar, ohne jedoch den ursprünglich deutlichen Farbwechsel von Purpur nach Gelb wieder zu erreichen. Dies wurde auf den hohen Glycerin Gehalt der Farbe zurückgeführt, da Glycerin wie in Kapitel 5.3 beschrieben das Absorptionsspektrum von BR beeinflusst und damit auch den Farbeindruck der PM-Inkjetttinte verändert.

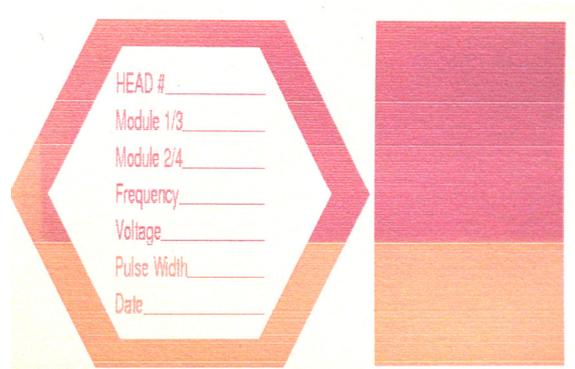


Abbildung 47: Druck der auf Glycerin basierenden PM-Inkjetttinte auf Glossypapier. Zur Darstellung der Photochromie wurde der Druck vor der Aufnahme mit 2 unterschiedlichen Farbfiltern belichtet (Blau: ($\lambda_{\max} = 410$) und Gelb: (cut-on 550 nm)).

Aufgrund der geringen Farbstärke sind Untersuchungen zur Photochromie an dieser Druckprobe wenig aussagekräftig und nicht dargestellt.

Polyvinylpyrrolidon basierende Tinte

Weil bei der Verwendung von Glycerin zur Herstellung von PM-Inkjetttinten die oben genannten Probleme durch den veränderten Farbeindruck und der Photochromie auftraten, wurde eine Inkjetttinte ohne Glycerin entwickelt. Da Polyglykole und Glykolether sowie Ethylenglykol nicht anwendbar sind (Kapitel 5.3) wurden Tests mit unterschiedlichen Polymeren durchgeführt. Es hat sich Polyvinylpyrrolidon $M_w = 10.000$ (PVP) als anwendbar erwiesen, das in der chemischen Industrie als universelles wasserlösliches Bindemittel bekannt ist. PVP ist ein hygroskopisches Polymer, das bei 75% rLF 40% Wasser aufnehmen kann und es kann PM-Inkjetttinten bis zu einem Anteil von 15 g/100g zugesetzt werden. Ein akzeptables Druckbild weist diese Farbe jedoch nur auf sehr saugfähigen Materialien, wie Glossy- oder Filterpapier auf, auf normalem Papier entsteht durch die geringe Tintenaufnahme des normalen Papiers ein sehr fleckiges Druckbild. Direkt nach dem Verdrucken zeigte sich eine sehr kontrastreiche Photochromie, der kräftige Gelbton wandelte sich beim Trocknungsprozess aber in einen Brauntönen um, der

einer Mischfarbe zwischen gelb und purpur entspricht. Nach dem Trocknen schaltet die Farbe, wie später zu sehen ist, nur noch unvollständig in den M-Zustand.

Bemerkenswert ist, dass die Farbe eine sehr hohe Intensität aufweist, die über der von anderen, später hergestellten höher pigmentierten Farben liegt. Dies liegt am Bindemittel PVP, das ein Einziehen der Farbe in die tieferen Schichten des Papiers verhindert.

Die Farbe trocknete sehr schnell in den Düsen des Druckkopfes ein (Abbildung 40). PVP ist zwar hygroskopisch, aber es verhindert das Eintrocknen nicht, sondern verstärkt es sogar noch. Es konnten keine hygroskopischen Substanzen oder Flüssigkeiten mit einem niedrigen Dampfdruck gefunden werden, die dieses Problem bei der Tinte vermindern.

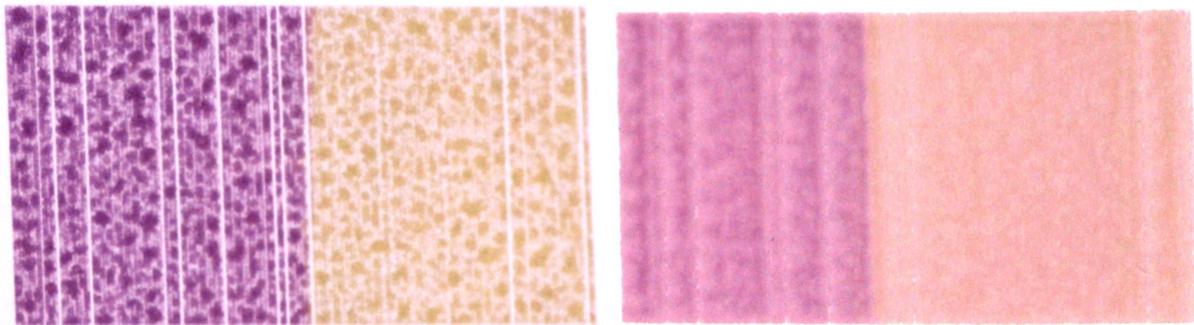


Abbildung 48: Darstellung der Photochromie der PVP-PM-Inkjetinte auf normalem (links) und Glossypapier (rechts).

Abhängigkeit der Photochromie von der Feuchtigkeit

Zur Quantifizierung der Photochromie wurden Farbmessungen an Drucken auf normalem und Glossypapier durchgeführt. Da der absolute Wassergehalt der Drucke nur schwer bestimmbar ist, wurden die Drucke vor der Messung 48 Stunden bei der angegebenen rLF in einem Klimaschrank vom Typ KBF 115 (WTB Binder, Tuttlingen) gelagert. Nach Helladaption wurden die Farbwerte des M-Zustandes bei 2.800 Lux Belichtung und die des B-Zustandes in Dunkelheit nach Belichtung mit einer Blitzlichtlampe und vorgeschaltetem blauen Filter mit dem Farbmessgerät Color-Guide 45/0 (BYKGardner, Geretsried) direkt auf der Probe gemessen.

Abbildung 49 zeigt den photochromen Hub der PVP-PM-Inkjetinte bei unterschiedlicher Feuchtigkeit auf Glossy- und normalem Papier. Es wurden 5 Werte zwischen 0% rLF und 80% rLF in 20 Prozentschritten aufgenommen. In den quantitativen Messungen bestätigt sich die vorhergehende qualitative Beobachtung, dass bei niedrigem Feuchtigkeitsgehalt die Photochromie der PVP-PM-Inkjetinte (<40% rLF) kaum und erst bei hohem Feuchtigkeitsgehalt deutlich sichtbar ist.

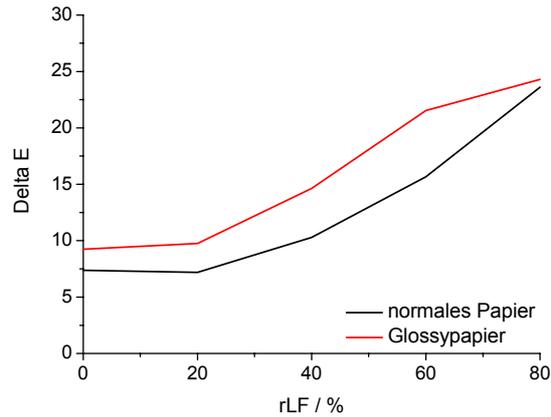


Abbildung 49: Photochromie der PVP-PM-Inkjetttinte abhängig von der rLF.

Auf Glossypapier ist die Photochromie etwas besser zu sehen, als auf normalem Papier. Dies ist allgemein zu beobachten und auf eine bessere Farbgebung des Glossypapieres zurückzuführen. Die Oberfläche von Glossypapier ist wesentlich glatter als die von normalem Papier, wodurch die Farbe einheitlicher in das Papier eindringt und Licht gleichmäßiger gestreut wird.

Der Anstieg der Photochromie auf Papier mit der Feuchtigkeit korreliert mit dem Wasserabsorptionsvermögens von PVP (Abbildung 50). In Lösung zeigt PVP in einer Konzentration von 4,1 g/100g keine Beeinflussung des Photozyklus von BR,⁸⁰ dies gilt jedoch scheinbar nicht für PM-Drucke mit verminderter Feuchtigkeit. Das PVP entzieht den PM-Drucken scheinbar zusätzlich Wasser und die Schaltbarkeit in den M-Zustand nimmt stark ab.

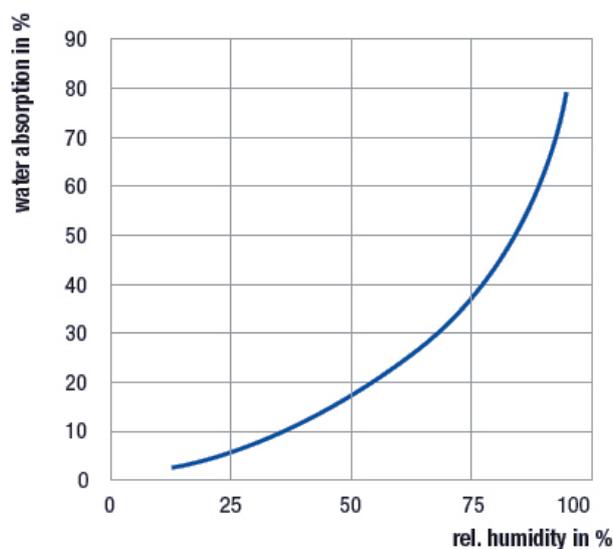


Abbildung 50: Wasserabsorption von PVP abhängig von der rLF, adaptiert vom entsprechenden Datenblatt der BASF AG.⁸⁵

Geschwindigkeit der Farbwechsel

Es wurde Untersuchungen zur Geschwindigkeit der Einstellung der Photochromie an bei 60% und 80% rLF klimatisierten Druckproben durchgeführt. Für die kinetischen Messungen wurden zeitaufgelöste UV/Vis-Reflektionsspektren mittels eines Faser-CCD-Array-Spektrometers vom Typ ADC 1000 USB / AVS-S2000 (Ocean Optics, Duiven, NL) in einem Abstand von 300 ms aufgenommen. Die kinetische Betrachtung erfolgte anhand der Reflektionsänderung bei $\lambda = 570$. Um einen Feuchtigkeitsverlust zu verhindern wurden die Druckproben vor und während der Messung zwischen zwei Glasplatten gelagert.

Die Proben wurden vor der Messung 30 Minuten helladaptiert, mit einer blauen Leuchtdiode ($\lambda_{\max} = 415$ nm) in den B-Zustand geschaltet und bei der Messung mit breitbandigem Glühlampenlicht (2.800 Lux) belichtet. Unter diesen Bedingungen ist ein unvollständiges Schalten der PM-Druckproben zu beobachten, d.h. es kommt zu einer Gleichgewichtseinstellung zwischen dem M- und B-Zustand. Werden die Druckproben mit einer intensiven gelben Leuchtdiode ($\lambda_{\max} = 590$ nm) belichtet, so schaltet ein erheblich größerer Anteil des BRs in den M-Zustand. Beim Entfernen der Leuchtdiode und weiterer kontinuierlicher Belichtung mit der Glühlampe stellt sich wieder ein Gleichgewicht zwischen M- und B-Zustand ein, das sich jedoch von der vorherigen Gleichgewichtseinstellung zwischen M- und B-Zustand unterscheidet. Die Einstellung des Gleichgewichtes zwischen B- und M-Zustand hängt demnach bei kontinuierlicher breitbandiger Beleuchtung vom Ausgangszustand ab.

Die zeitliche Veränderung der Druckproben wurde gemessen, sowohl vom B-Zustand als auch vom M-Zustand ausgehend in das jeweilige Gleichgewicht zwischen M- und B-Zustand. Die Messkurven wurden nach einer Baselinekorrektur bei 700 nm mit einem exponentiellen Fit erster Ordnung angepasst.

Die Kinetik der Reaktionen verläuft nicht nach einem einfachen Geschwindigkeitsgesetz, da sowohl thermische als auch photochemische Reaktionen an der Einstellung des dynamischen Gleichgewichtes beteiligt sind, so dass eine semilogarithmische Auftragung keine auswertbaren Ergebnisse liefert. Aus diesem Grund wurde die Zeit bestimmt, die eine Probe für eine Reflektionsänderung $\Delta\text{Ref}_{570\text{nm}}$ von 90% bezogen auf die Reflektionsänderung zwischen 0 und 30 Sekunden unter Beleuchtung mit einer Glühlampe benötigt. Nach einem $\Delta\text{Ref}_{570\text{nm}}$ von 90% sind nur noch geringe Änderungen der Farbwerte festzustellen, so dass die Farbgebung zu diesem Zeitpunkt als konstant angesehen werden kann.

Die Auftragung der kinetischen Messungen an PVP-PM-Inkjetdrucken sind in Abbildung 51 dargestellt. Allgemein ist zu beobachten, dass sich bei höherer rLF ein größerer Teil des BRs in den M-Zustand schalten lässt, der photochrome Hub ist sowohl durch Beleuchtung mit einer Glühlampe, als auch mit Dioden größer. Die Geschwindigkeit der Gleichgewichtseinstellung ändert sich ebenfalls mit der Luftfeuchtigkeit und wird bei höherer Feuchtigkeit meist schneller.

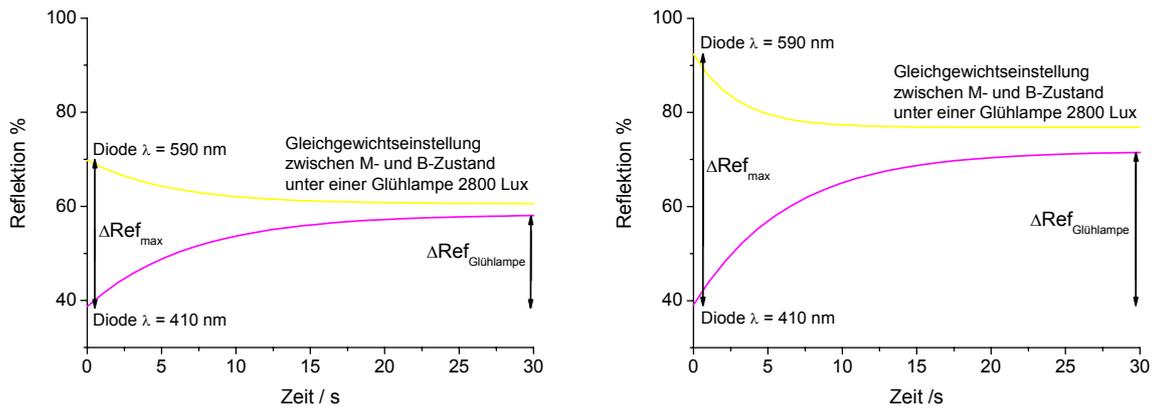


Abbildung 51: Geschwindigkeit des Ausbleichens der PVP-PM-Inkjetinte unter Glühlampenlicht bei 60% rLF (links) und 80% rLF (rechts).

Tabelle 3: Photochromer Hub und kinetische Daten der PVP-PM-Inkjetinte.

	Bleichbarkeit mit Dioden ΔRef_{max}	Bleichbarkeit Glühlampe $\Delta Ref_{Glühlampe}$	Einstellung Gleichgewicht B→M	Einstellung Gleichgewicht M→B
60% rLF	55%	32%	15,2 s	12,5 s
80% rLF	88%	53%	14,2 s	6,7 s

Die Höhe des photochromen Hubes hängt nicht nur von der Feuchtigkeit, sondern auch von der Lichtquelle ab. Breitbandige Lichtquellen strahlen sowohl in die B_{570} - als auch in die M_{410} -Bande ein, so dass sich ein dynamisches Gleichgewicht zwischen beiden photoinduzierten Übergängen einstellt, dass auch vom Verhältnis der emittierten Banden der Lampe bei diesen beiden Wellenlängen abhängt. Durch Belichtung mit einer Diode mit definierter Emissionsbande von $\lambda_{max} = 590$ nm wird nur der Übergang in den M-Zustand angeregt und der Übergang von M- zum B-Zustand findet nur noch thermisch statt. Die photochrome Hub, der durch Bestrahlung mit einer intensiven Leuchtdiode mit $\lambda_{max} = 590$ nm erreicht wird, kann deshalb als maximale Schaltbarkeit oder Reflektivitätsänderung ΔRef_{max} einer Druckprobe angesehen werden.

Basisfarbe für weiter Entwicklungen

Die Photochromie sollte unter normalen Raumluft- und Lichtbedingungen schnell und optimalerweise als Farbwechsel von purpur nach gelb sichtbar und möglichst unabhängig von Parametern wie der Lichtquelle, Luftfeuchtigkeit sein und sich mit der Zeit nicht verändern. Dies wurde bei den bisherigen PM-Inkjetttinten noch nicht annähernd erreicht.

Ein großes Problem bei der Entwicklung der photochromen PM-Inkjetttinten ist, dass der photochrome Effekt von vielen Faktoren beeinflusst wird, so auch von den unterschiedlichen Inhaltsstoffen einer Tinte. Um dies so weit wie möglich auszuschließen wurde für weitere Entwicklungen vorerst eine nicht photochrome Basisfarbe entwickelt, die nur die notwendigsten Inhaltsstoffe enthält, wie BR, Tensid, Entschäumer und <1 g/100g Glycerin, um noch verdruckbar zu sein. Die Tinte wurde dann mit dem Ziel eine möglichst gute Photochromie einzustellen schrittweise durch weitere Zusatzstoffe ergänzt. Störende Einflüsse auf die Photochromie durch nicht unbedingt notwendige Zusatzstoffe werden so ausgeschlossen. Diese Farbe diente bei späteren Untersuchungen auch als Vergleichsprobe.

Die so entwickelte Farbe ist zwar verdruckbar, zeigt aber eine hohe Neigung zur Bildung von Satteliten und liefert deswegen ein schlechtes Druckbild.

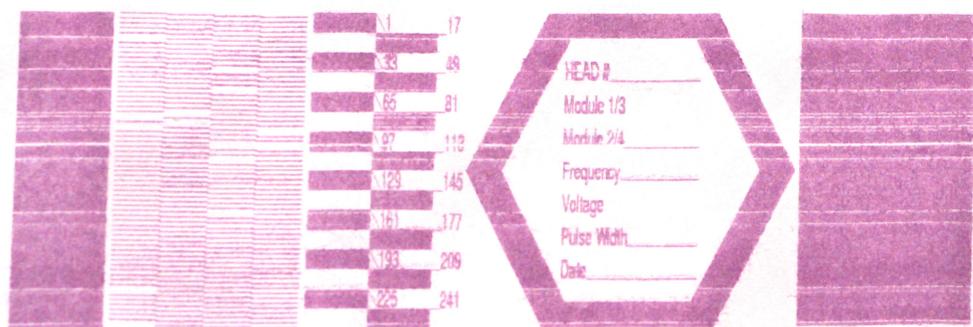


Abbildung 52: Ausdruck der nicht photochromen Basisfarbe.

Natriumacetat als Photochromiehilfsstoff

Bei Sieb- und Tampondruckfarben wurde zusätzlich zu Arginin hygroskopisches Natriumacetat zugegeben, um die Klimaabhängigkeit der Photochromie zu verringern. Arginin kann PM-Inkjetttinten problemlos beigemischt werden, Natriumacetat ist aber nur bedingt geeignet, da Salze allgemein das Druckbild durch Bildung von Satteliten verschlechtern und die Korrosion des Druckkopfes begünstigen. Es wurde dennoch zu den Inkjetttinten zugegeben, um zu testen, ob die

photochromen Eigenschaften der PM-Inkjetttinten durch den Zusatz von Natriumacetat wesentlich verbessert werden können.

Zunächst wurde die in Abbildung 53 gezeigte Farbe nur mit Arginin (7 g/100g) als Photochromiehilfsstoff hergestellt, wodurch auf normalem und Glossypapier eine deutliche Photochromie erzielt wurde. Arginin muss PM-Inkjetttinten zum Drucken auf porösen Substraten in relativ hohen Konzentrationen zugegeben werden, da ein Teil des Arginins von dem Substrat Papier aufgenommen wird und nicht in der Farbschicht verbleibt (Abbildung 34). Auf Glossypapier kommt es je nach Schichtdicke der Farbe zu einem ungleichmäßigen Verhalten der Photochromie.

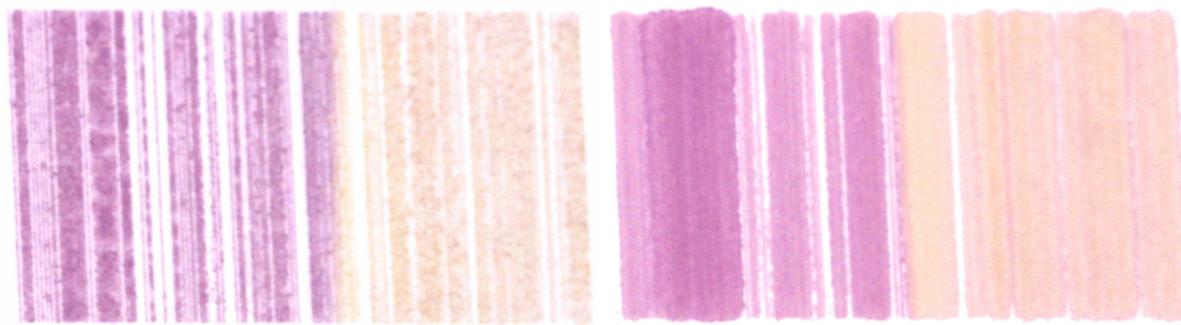


Abbildung 53: PM-Inkjetttinte nur mit Arginin als Photochromiehilfsstoff auf normalem (links) und Glossypapier (rechts).

Geschwindigkeit der Farbwechsel

Durch die hohe Konzentration an Arginin wird bei hoher Feuchtigkeit (80% rLF) mit Hilfe von der gelben Leuchtdiode ein guter photochromer Hub erzielt. Bei der bei 60% rLF klimatisierten Probe nimmt der photochrome Hub jedoch stark ab, die Photochromie dieser Farbe hängt demnach stark von der Feuchtigkeit der Probe ab.

Tabelle 4: Photochromer Hub und kinetische Daten PM-Inkjetttinte mit Arginin.

	Bleichbarkeit mit Dioden ΔRef_{max}	Bleichbarkeit Glühlampe $\Delta Ref_{Glühlampe}$	Einstellung Gleichgewicht B→M	Einstellung Gleichgewicht M→B
60% rLF	70%	39%	12,2 s	18 s
80% rLF	95%	58%	13,3 s	7,7 s

Die Bleichbarkeit dieser Drucke unterscheidet sich je nach Feuchtigkeit sehr stark, liegt aber mit $\Delta Ref_{max} = 70\%$ und $\Delta Ref_{max} = 95\%$ über der PVP-PM-Inkjetttinte. Bei Beleuchtung mit einer Glühlampe sind die Werte jedoch ähnlich gering, d.h. das Licht der Glühlampe (2.800 Lux) reicht nicht aus, um die Drucke in einem ausreichenden Maße auszubleichen.

Wird zu dem obigen Rezept Natriumacetat (3,5 g/100g) zugegeben, so kommt es zu einer wesentlichen Verbesserung der photochromen Eigenschaften, wie in Abbildung 54 zu sehen ist.

Das Eindringverhalten der Tinte hat sich durch die Zugabe von Natriumacetat geändert, so dass auf normalem Papier ein schlechteres, fleckiges Druckbild entstanden ist. Auf dem stärker saugenden Glossypapier ist das Druckbild besser.

Für eine bessere Verdruckbarkeit wurde bei der Farbe zusätzlich der Glycerinanteil auf 3,3 g/100g erhöht, sie neigt aber auch durch die Zugabe des Natriumacetates wieder stark dazu in den Druckdüsen einzutrocknen.

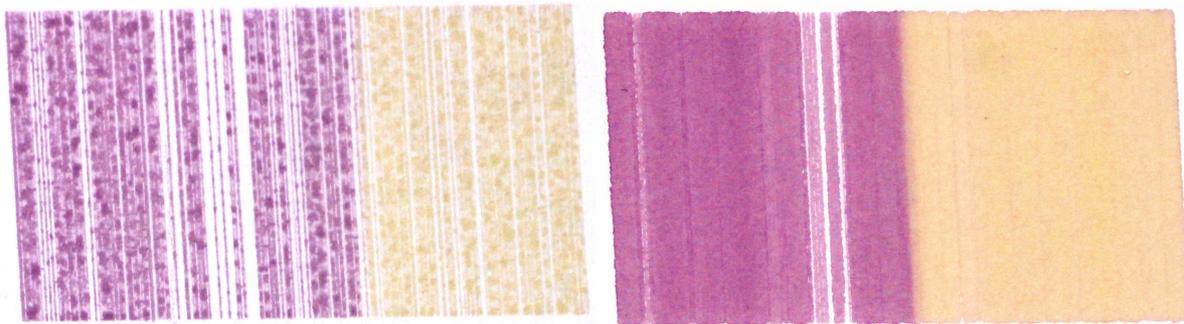


Abbildung 54: PM-Inkjetttinte mit Arginin und Natriumacetat als Photochromiehilfsstoff auf normalem (links) und Glossypapier (rechts).

Abhängigkeit der Photochromie von der Feuchtigkeit

Die Photochromie zeigt wesentlich bessere Eigenschaften, als bei den vorherigen Druckfarben. Wie in Abbildung 55 zu sehen verläuft die photochrome Farbänderung zwischen 40-80% rLF nahezu konstant, d.h. die Abhängigkeit der Photochromie von der Feuchtigkeit hat sich deutlich verringert.

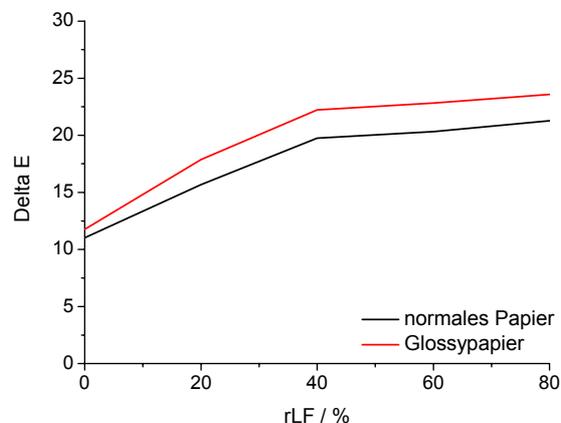


Abbildung 55: Photochromie der PM-Inkjetttinte mit Natriumacetat und Arginin abhängig von der rLF.

Geschwindigkeit der Farbwechsel

Die geringe Abhängigkeit der Photochromie dieser Farbe von der Luftfeuchtigkeit schlägt sich auch in den kinetischen Messungen nieder. Die Geschwindigkeiten für 60 und 80 % rLF sind nahezu identisch. Allein der photochrome Hub ist bei 80% rLF etwas höher. Es ist zu beachten, dass die Änderung von $\Delta\text{Ref}_{\text{max}} = 87\%$ bei 60% rLF und $\Delta\text{Ref}_{\text{max}} = 96\%$ bei 80% rLF nur zu einer geringen Veränderung bei den Farbwerten führt und ein nahezu identischer Farbeindruck besteht.

Tabelle 5: Photochromer Hub und kinetische Daten der Inkjetttinte mit Arginin und Natriumacetat.

	Bleichbarkeit mit Dioden $\Delta\text{Ref}_{\text{max}}$	Bleichbarkeit Glühlampe $\Delta\text{Ref}_{\text{Glühlampe}}$	Einstellung Gleichgewicht B→M	Einstellung Gleichgewicht M→B
60% rLF	87%	59%	15,4 s	8,4 s
80% rLF	96%	69%	15,2 s	8,1 s

Diese Farbe zeigt einen sehr guten photochromen Hub, der sich mit der Feuchtigkeit deutlich weniger als bei anderen Farben ändert. Auch unter Glühlampenlicht wird mit 59% und 69% ein hoher Anteil M-Zustand erreicht, der einem deutlichen Farbwechsel von purpur nach dunkelgelb entspricht.

In weiteren Versuchen wurden unterschiedliche Konzentrationen und Verhältnisse an Arginin und Natriumacetat getestet. Werden beide Stoffe in sehr hohen Konzentrationen von 10 g/100g eingesetzt, so kommt es zu einer Verminderung der Farbqualität, d.h. die Drucke erscheinen trotz gleicher Pigmentierung wesentlich blasser und die Schaltbarkeit nimmt ab. Ein Verhältnis von Arginin zu Natriumacetat von 2:1 mit 7 g/100g Arginin wie in der vorgestellten Tinte hat sich als am besten erwiesen.

Für die Herstellung der nächsten Farbe wurden die bisherigen Ergebnisse kombiniert. Durch Zugabe von PVP zeigt sich eine höhere Farbintensität und durch die Zugabe von Natriumacetat eine bessere Photochromie. Bei der Farbe in Abbildung 56 wurde neben Arginin und Natriumacetat im Verhältnis 2:1 noch PVP (2,5 g/100g) zugegeben.

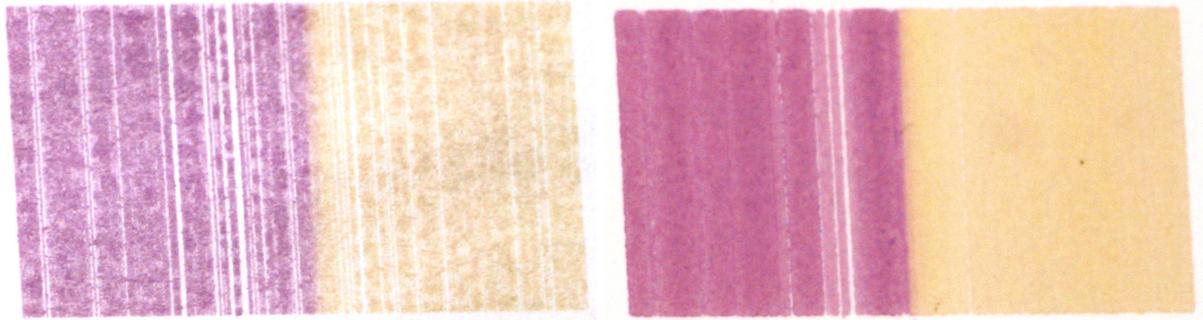


Abbildung 56: PM-Inkjetttinte mit Arginin, Natriumacetat und PVP auf normalem (links) und Glossypapier (rechts).

Die Drucke dieser Farbe zeigt ein saubereres Druckbild als die vorhergehende Farbe, so zeigen die Ränder der Farbe sauberere Konturen und die Farbe dringt gleichmäßig in das Papier ein.

Abhängigkeit der Photochromie von der Feuchtigkeit

Auf normalem Papier bleibt die Photochromie zwischen 40% und 80% rLF nahezu konstant, auf Glossypapier steigt sie mit der Feuchtigkeit an. Durch den Zusatz von PVP ist die Abhängigkeit des photochromen Hubs von der Feuchtigkeit wieder größer geworden.

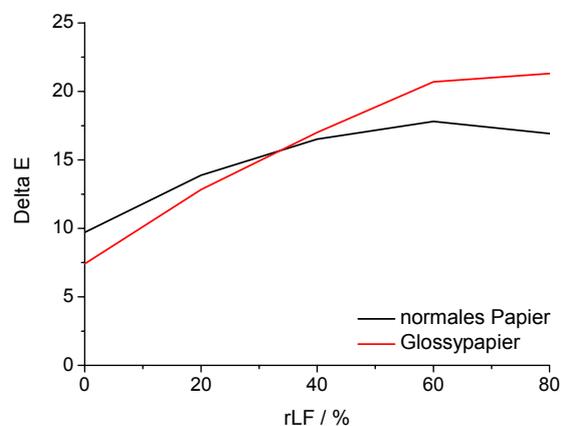


Abbildung 57: Photochromie der PM-Inkjetttinte mit Arginin, Natriumacetat und PVP abhängig von der rLF.

Geschwindigkeit der Farbwechsel

Obwohl sich die Farbwerte auf normalem Papier sich zwischen 60% und 80% rLF nur wenig ändern, ist eine deutliche Änderung in der Geschwindigkeit der Gleichgewichtseinstellung sowohl vom M-Zustand ausgehend, als auch vom B-Zustand ausgehend zu beobachten.

Tabelle 6: Photochromer Hub und kinetische Daten der PM-Inkjetttinte mit Arginin, Natriumacetat und PVP.

	Bleichbarkeit mit Dioden ΔRef_{max}	Bleichbarkeit Glühlampe $\Delta Ref_{Glühlampe}$	Einstellung Gleichgewicht B→M	Einstellung Gleichgewicht M→B
60% rLF	90%	62%	13 s	7,6 s
80% rLF	96%	72%	9,6 s	11,2 s

Die Bleichbarkeit der PM-Inkjetttinte hat sich durch die Zugabe des PVP's auf normalem Papier verbessert.

Betain als Photochromiehilfsstoff

Durch den Zusatz von Natriumacetat verbessern sich die photochromen Eigenschaften der Drucke erheblich. Aufgrund der Probleme, die durch die Verwendung von Natriumacetat entstehen, muss es durch andere Stoffe ersetzt werden, die diese Funktion übernehmen können. Als besonders geeignet hat sich zu diesen Zweck Betain erwiesen. Betain zeigt alleine nur einen geringen Effekt als Photochromiehilfsstoff,¹ in Verbindung mit Arginin kommt es jedoch zu einer entscheidenden Verlängerung in der Lebensdauer des M-Zustandes. Bei dem bestehenden Rezept mit Natriumacetat wurde Natriumacetat durch Betain ersetzt (3,5 g/100g). In einem Verhältnis von 2:1 zugesetzt zeigte sich zwar eine Verbesserung der Photochromie im Vergleich zur Farbe nur mit Arginin, aber das Ergebnis war im Vergleich zur Farbe mit Natriumacetat schlechter. Der photochrome Hub der Farbe unterschied sich stark zwischen den beiden Papiersorten, was auf eine unterschiedliche Absorption des Lösungsmittels und der darin gelösten Photochromiehilfsstoffe zurückgeführt wurde.

Aufgrund der starken Abhängigkeit des photochromen Farbabstandes von der Konzentration die sich zwischen den beiden Papiersorten zeigte, wurde beim nächsten Rezept der Betainanteil verdoppelt (7 g/100g), das Verhältnis von Betain und Arginin beträgt 1:1. Die Bleichbarkeit der Farbe hat sich wesentlich verbessert, wenn auch in Abbildung 58 auf Papier nicht so gut zu sehen, da die Gleichgewichtseinstellung zwischen M- und B-Zustand unter Beleuchtung mit Xenonphotoscheinwerfern während der Aufnahmen sehr schnell verläuft.

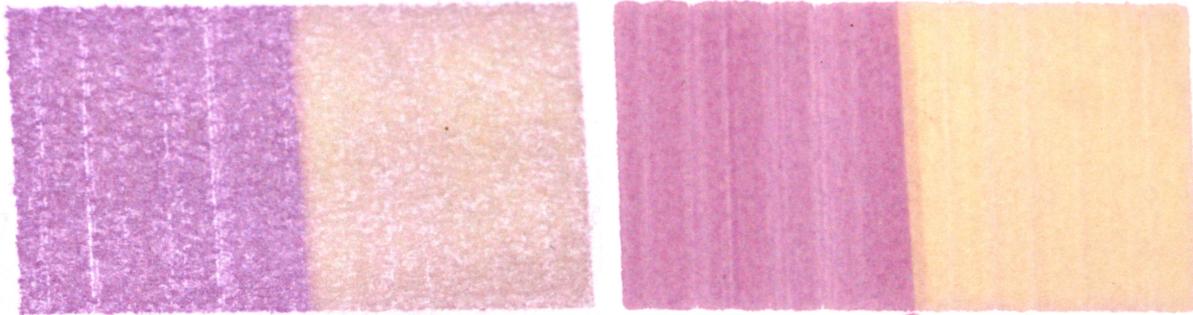


Abbildung 58: Inkjetttinte mit Betain und Arginin 1:1 auf normalem (links) und Glossypapier (rechts).

Abhängigkeit der Photochromie von der Feuchtigkeit

Die Farbe zeigt auf normalem Papier eine geringe Abhängigkeit des photochromen Hubs von der rLF, die der vorhergehenden Farbe mit Natriumacetat und PVP entspricht. Auf Glossypapier fällt der photochrome Hub bei 80% rLF ab, da das Glossypapier bei dieser rLF mit der Farbe reagiert.

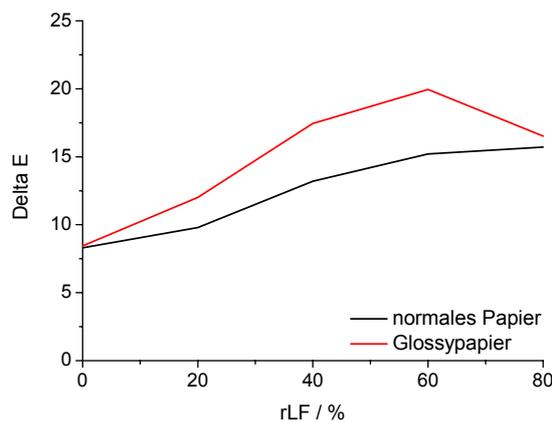


Abbildung 59: Photochromie der PM-Inkjetttinte mit Betain abhängig von der rLF.

Geschwindigkeit der Farbwechsel

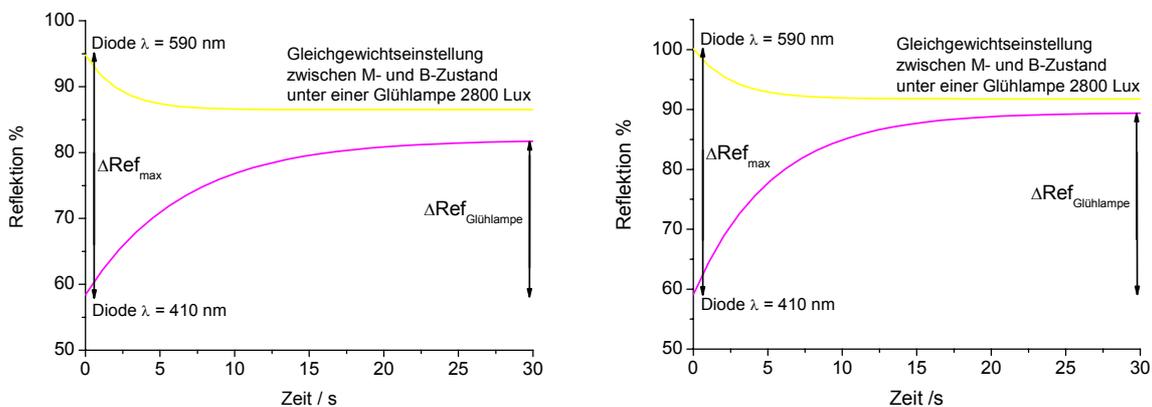


Abbildung 60: Geschwindigkeit des Ausbleichens der Betain-Inkjetttinte unter Glühlampenlicht bei 60% rLF (links) und 80% rLF (rechts).

Tabelle 7: Photochromer Hub und kinetische Daten der PM-Inkjetttinte mit Arginin und Betain 1:1.

	Bleichbarkeit mit Dioden $\Delta\text{Ref}_{\text{max}}$	Bleichbarkeit Glühlampe $\Delta\text{Ref}_{\text{Glühlampe}}$	Einstellung Gleichgewicht B→M	Einstellung Gleichgewicht M→B
60% rLF	88%	56%	14,6 s	5,2 s
80% rLF	99%	73%	12 s	5,8 s

Diese Farbe zeigt den bisher höchsten photochromen Hub durch Beleuchtung mit einer gelben Diode ($\lambda = 590 \text{ nm}$). Der photochrome Hub entspricht einem vollständigen Ausbleichen des Bakteriorhodopsin bei 80% rLF.

Zu der oben gezeigten Farbe wurden zusätzlich 5 und 10 g/100g Natriumacetat zugegeben. Eine Verbesserung der photochromen Eigenschaften der Tinte ist nicht zu beobachten. Im Gegenteil bei Zugabe von bis zu 10 g/100g Natriumacetat verschlechtert sich die Farbgebung und das Druckbild erheblich.

Die PM-Inkjetttinte mit nicht hygroskopischem Betain zeigt ähnliche photochrome Eigenschaften wie die entsprechende Farbe mit Natriumacetat. Dies ist zunächst einmal ein überraschendes Ergebnis, da Natriumacetat bisher unter der Annahme PM-Farben beigemischt wurde, das es über seinen hygroskopischen Effekt den Wasseranteil in der Schicht erhöht und dadurch die Klimaabhängigkeit der Photochromie verringert.^{1, 2}

In der Literatur ist aber nicht nur die Veränderung der Kinetik des Photozyklus durch den pH-Wert bekannt, sondern es ist auch ein Einfluss durch die Ionenstärke einer Lösung beschrieben.^{86, 87} Bei hohen pH-Werten $>10,5$ verläuft der Photozyklus ohne O-Intermediat,⁸⁸ bei hoher Ionenstärke lässt sich dies auch schon ab pH 9 beobachten.

In trockenen Schichten verläuft der Photozyklus ebenfalls ohne O-Intermediat, bei einer rLF $<60\%$ wird die Schiff'sche Base direkt von der extrazellulären Seite protoniert⁸¹ und der Zerfall des M-Zustandes verläuft schneller. Bei sinkender Feuchtigkeit ist von einem steigenden Anteil an diesem Reprotonierungsmechanismus auszugehen.

Wenn bei hohem pH eine zusätzlich hohe Ionenstärke den Reprotonierungsmechanismus von der extrazellulären Seite verlangsamt, können die oben beschriebenen Ergebnisse erklärt werden. Arginin alleine wirkt nur der Protonierung von der cytoplasmatischen entgegen und zeigt bei niedriger rLF eine geringe

Wirksamkeit. Bei Zugabe von Natriumacetat oder Betain wird jedoch zusätzlich die Reprotonierung von der extrazellulären Seite gehemmt, so dass eine lange Lebensdauer des M-Zustandes auch bei niedriger rLF (40-60%) zu beobachten ist. In diesem Sinne wäre vorrangig die Eigenschaft des Natriumacetats als Salz von Bedeutung, was auch erklärt, dass im Rahmen dieser Arbeit kein (nichtionisches) Feuchthaltemittel mit ähnlicher Wirkung gefunden werden konnte. Ob der hygroskopische Effekt des Natriumacetats bei geringerer rLF <40% von Bedeutung ist, muss noch untersucht werden, da unterhalb einer bestimmten rLF der Photozyklus nur noch bis zum L-Intermediat verläuft.

Oberhalb einer bestimmten Konzentration an Betain zeigt die weitere Zugabe von Natriumacetat keinen Effekt mehr, es ist deshalb von einer Sättigung auszugehen.

PM-Inkjetttinte aus lyophilisierter Purpurmembran

Die bisher vorgestellten Farben wurden bis auf die erste Farbe auf Basis von Glycerin mit einer PM-Suspension hergestellt. Aufgrund der besseren Lagerbarkeit wird die PM allgemein in getrockneter Form bereitgestellt. Das mit Arginin und Betain entwickelte Rezept wurde deshalb etwas abgeändert und mit technischer lyophilisierter PM mit einer Pigmentierung von 5 g/100g hergestellt. Trotz der höheren Pigmentierung weißt die aus technischer PM hergestellte Inkjetttinte ähnliche Farbwerte, wie die mit einer PM-Suspension hergestellten PM-Inkjetttinten auf, obwohl diese um 1,5 g/100g geringer pigmentiert sind. Durch die Herstellung der Suspension (Kapitel 3.1) wird die PM weiter aufgereinigt, so dass der Gehalt an Fremdstoffen geringer ist und eine höhere Reinheit erzielt wird.



Abbildung 61: PM-Inkjetttinte aus lyophilisierter PM hergestellt auf normalem (links) und Glossypapier (rechts).

Die PM-Inkjetttinte aus lyophilisierter PM weißt ähnliche Kinetiken und Farbwerte wie die zuvor nach gleichem Rezept mit einer Suspension hergestellten Farbe auf. Untersuchungen zu dieser Farbe sind deshalb nicht dargestellt.

5.7 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene PM-Inkjetttinten für den Piezo-Druckkopf Spectra® Nova PH 256/80 AAA hergestellt. Ausgangspunkt dieser Arbeit war eine bekannte nicht photochrome Rezeptur, zu der in einem ersten Schritt Photochromiehilfsstoffen zugegeben wurden, ohne jedoch bei den photochromen Eigenschaften ein befriedigendes Ergebnis zu erhalten. Auch eine Weiterentwicklung dieser Farbe führte zu keiner entscheidenden Verbesserungen, da die eingesetzte hohe Konzentration an Glycerin die Farbgebung beeinflusst und den photochromen Hub abschwächt.

Die Entwicklung einer auf Polyvinylpyrrolidon basierenden PM-Inkjetttinte ohne Glycerin zeigte ebenfalls Probleme mit der Photochromie, die durch kleine Veränderungen an der Rezeptur nicht gelöst werden konnten. Aus diesem Grund wurde eine neue Tinte nur mit Purpurmembran, Tensid, Entschäumer, Wasser und geringem Glycerinanteil <1% hergestellt, die als Basisfarbe zur Herstellung weiterer Farben diente. Die schrittweise Erweiterung der Basisfarbe um weitere Inhaltsstoffe bietet den Vorteil, dass Effekte auf die Photochromie besser eingeschätzt werden können. Auf diese Weise konnten Tinten mit den Hilfsstoffen Arginin, Natriumacetat und Betain hergestellt werden, die eine sehr gute Photochromie zeigen. Diese Vorgehensweise erlaubt zusätzlich eine Einschätzung zur Wirkungsweise dieser Hilfsstoffe auf den Photozyklus. Die Wirkung des Natriumacetates scheint sich nicht nur auf den hygroskopischen Effekt zu beschränken, sondern vielmehr muss von einer Beeinflussung des Photozykluses durch seine Eigenschaften als Salz ausgegangen werden. Diese Erkenntnis eröffnet neue Möglichkeiten bei der Herstellung photochromer PM-Farben.

Die Tintenentwicklung beschränkte sich auf poröse Medien, bei denen Hilfsstoffe in höherer Konzentration zugegeben werden müssen, da ein Teil mit dem Lösungsmittel vom Material absorbiert wird. Für nichtporöse Materialien muss deshalb die Konzentration an Photochromiehilfsstoffen neu bestimmt werden.

Dispergierungsprobleme bei der reproduzierbaren Herstellung von Inkjetttinten wurden durch den Einsatz der PM als Suspension umgangen, es wurde aber gezeigt, dass die entwickelten Rezepturen auf lyophilisiertes Material übertragbar sind. Aufgrund der geringen Pigmentierung, theoretisches Maximum 10 g/100g, ist es sinnvoll möglichst reines Material zur Herstellung von PM-Inkjetttinten einzusetzen.

6 Stabilität von PM-Inkjetdrucken

Für den technischen Einsatz der PM in Inkjettinten spielt die Beständigkeit, sowohl als Materialeigenschaft der PM, als auch die der Druckerzeugnisse, eine entscheidende Rolle. Bei der Anwendung von Druckfarben sind diese verschiedenen von der Anwendung abhängigen chemischen und physikalischen Einflüssen und Beanspruchungen ausgesetzt.

Jede Anwendung hat ein eigenes Anforderungsprofil. In jedem Fall hat bei Farbmitteln die Lichtbeständigkeit eine große Bedeutung, da diese mehr oder weniger stark künstlichem und natürlichem Licht ausgesetzt sind. Besonders gilt dies für die Anwendung von PM als photochromes Pigment, da das Schalten zwischen den photochromen Zuständen ein häufiges Belichten mit sich bringt. Bei der photochromen Reaktion können Nebenreaktionen auftreten, die zu einem Verlust an Absorption führen. Die Schaltbarkeit photochromer Farbmittel zwischen beiden photochromen Zuständen, ohne einen Verlust an Absorption, ist deshalb eine weitere wichtige Materialeigenschaft, die über die Anwendbarkeit dieser Materialien entscheidet.

BR verfügt durch seine Einbettung in die PM über eine bemerkenswerte Stabilität gegen thermische Belastung, in trockenen Schichten bis 140°C und bei Anwesenheit von Feuchtigkeit bis 99 °C.¹² Das Verhalten von BR bei thermischer Belastung ist jedoch komplexer und für applizierte PM-Farben noch nicht beschrieben. Bei photochromen PM-Farben ist die Feuchtigkeit für die photochromen Eigenschaften der Farbe sehr wichtig, entsprechend sollte der Einfluss der Feuchtigkeit auf die Temperaturstabilität bekannt sein.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die grundlegenden Beständigkeiten der photochromen PM-Inkjetdrucke untersucht, wie die Schaltbarkeit, Lichtechtheit, Temperaturstabilität und Wasserechtheit. Je nach Anforderungsprofil einer Anwendung sollten auch andere Echtheiten bestimmt werden. Genormte Prüfmethoden sind in DIN 16524 und DIN 16525 beschrieben. Diese Normen beinhalten unter anderem auch Prüfmethoden für (fetthaltige) Lebensmittel und Reinigungsmittel, die eher für Farben des alltäglichen Gebrauches interessant sind. PM-Druckfarben zielen jedoch eher auf die Anwendung als photochromes Pigment im Sicherheits- und Wertedruck. Für eine konkrete Anwendung auf einem bestimmten Produkt müssen dann die jeweilig erforderlichen Echtheiten getestet werden.

6.1 Wasserechtheit

Wasserechtheit ist die Beständigkeit von Druckfarben gegenüber Feuchtigkeit. Um die Beständigkeit der PM-Inkjetdrucke gegen Feuchtigkeit zu überprüfen, wurden in einem ersten Test PM-Inkjetttinten und eine PM-Siebdruckfarbe unter fließendem Wasser abgespült, abgetropft und zum Trocknen inkubiert. Sowohl bei den Inkjetttinten als auch bei den Siebdruckfarben ist über einen Zeitraum von 2 Stunden keine Veränderung zu beobachten. Ob die Farben durch Wasser angelöst werden, wurde getestet, indem nach 2 Minuten Einwirkzeit abschnittsweise über die Farben gewischt wurde. Die Siebdruckfarbe und eine PM-Inkjetttinte mit hohem PVP-Anteil ließen sich verwischen, die anderen PM-Inkjetttinten blieben jedoch haften.

Die PM-Inkjetttinten dringen im Gegensatz zu Siebdruckfarben tiefer in das Papier ein, so dass sie schwer herauszulösen sind. Beim Siebdruck wird eine Farbschicht auf das Papier aufgetragen, die sich leicht wieder entfernen lässt. Bei der PVP-PM-Inkjetttinte, die wie in Kapitel 5.6 beschrieben ebenfalls nur wenig in das Papier eindringt, ist Gleiches zu beobachten.

Im Weiteren wurde die Wasserechtheit der PM-Inkjettdruckfarben nach DIN 16524-1 getestet. Hierzu wurde bedrucktes Papier zwischen mit destilliertem Wasser getränktes Filterpapier gelegt, zwischen zwei Glasplatten eingebracht, in PE-Folie eingewickelt und mit 1 kg belastet. Nach 24 Stunden Lagerung bei $20\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ wurde die Verfärbung des Druckes und des getrockneten Filterpapiers beurteilt.

Nach DIN wird zur Bewertung ein Graumaßstab verwendet, der jedoch nicht zur Verfügung stand, die Bewertung ist aber auch ohne Graumaßstab möglich. Das Filterpapier zeigt eine Veränderung. Die Bereiche, die mit dem Papier in Kontakt waren sind optisch aufgehellt, sowohl auf der Vorderseite, als auch auf der Rückseite. Es ist davon auszugehen, dass die optischen Aufheller des Papiers bei dem Versuch in das Filterpapier diffundieren, jedoch keine PM-Farbe. Eine Übertragung der PM-Farbe auf das Filterpapier ist nur bei der als Vergleich getesteten Siebdruckfarbe und der PVP-PM-Inkjetttinte zu beobachten. Alle in Kapitel 5.6 vorgestellten PM-Inkjetttinten wurden so getestet und zeigen unter den Versuchsbedingungen keine Veränderung oder Farbübertragung auf das Filterpapier. Sie besitzen demnach eine sehr gute Wasserechtheit.

Die PM haftet nach dieser Untersuchung stark auf dem Papier und kann durch Wasser nur schwer abgelöst werden. Die Zugabe von PVP hat, solange die Konzentration nicht zu hoch, ist keinen Einfluss auf die Wasserechtheit.

6.2 Temperaturstabilität

Das in der PM integrierte Protein BR besitzt im Vergleich zu anderen Membranproteinen durch kristalline Einbettung eine ungewöhnliche hohe Stabilität gegen thermische Belastung. In trockenen Schichten ist eine Temperaturstabilität bis 140 °C über zwei Tage in der Literatur bekannt.¹² BR zeigt aber bei thermischer Belastung ein wesentlich komplexeres Verhalten, so muss der Einfluss von Feuchtigkeit, pH-Wert und Belichtung bei der Betrachtung der Temperaturstabilität mit einbezogen werden.

Unterhalb von 60 °C sind in Dunkelheit keine thermischen Veränderungen in der PM festzustellen. Bei intensiver Bestrahlung werden jedoch schon ab 40 °C irreversible photochemische Prozesse beobachtet.⁸⁹ Zwischen 60 °C und 80 °C kommt es bei BR zu einem reversiblen gel-flüssig Phasenübergang der Lipidmatrix in der Purpurmembran, der mit einer Abnahme der Absorption und einem hypsochromen Shift einhergeht.^{90, 91} Die zweidimensionale Kristallinität der Purpurmembran geht bei diesem Phasenübergang unter Erhalt der trimeren Anordnung des Bakteriorhodopsins verloren.⁹² Zwischen 80 °C und 100 °C lösen sich die Trimere auf und schließlich schmilzt, bzw. entfaltet sich das BR. Je nach Feuchtigkeit und pH-Wert können die Temperaturen variieren, bei denen die Phasenübergänge stattfinden.

Bei einem pH-Wert von 6,5 wird eine Stabilität des BRs bis 100 °C beobachtet, bei steigendem pH-Wert bis zu pH 10,5 nimmt die Temperaturstabilität auf 60°C hin ab.⁹³ In wässrigen Systemen schmilzt BR bei ca. 100 °C, in trockenen Schichten hingegen ist innerhalb von 2 Tagen bei 140 °C keine Denaturierung zu beobachten, wie Beugungsexperimente gezeigt haben.¹² Bei diesem Versuch zeigt sich jedoch bei 140°C eine spektrale Veränderung, die ähnlich der spektralen Veränderung des ersten Phasenübergangs in Lösung bei 70 °C ist.

Noch ungeklärt ist die Frage, wie sich BR als PM-Druckfarbe appliziert, bei thermischer Belastung verhält. In einem ersten Schritt wurden PM-Inkjetdrucke und ein PM-Siebdruck für längere Zeit bei 0% rLF und 80°C gelagert. Bei diesem Versuch, der mit Drucken auf normalem Papier durchgeführt wurde, da sich Glossypapier unter diesen Bedingungen schnell verfärbt, wurden die Farbwerte der Farben gemessen, um die wahrnehmbare Farbveränderung bewerten zu können. Die Versuchszeit erstreckte sich über 150 Stunden. Bei der ersten Messung war eine relativ starke Farbveränderung festzustellen, die jedoch bei den meisten Farben relativ konstant blieb. Nur bei der Farbe ohne Photochromiehilfsstoffe kann ein

kontinuierlicher Abbau unter diesen Bedingungen beobachtet werden. Nach bisherigem Kenntnisstand kann die bei der ersten Messung starke Veränderung der Farbwerte durch den hypsochromen Shift des ersten Phasenüberganges erklärt werden. Von einer Denaturierung ist zunächst nicht auszugehen.

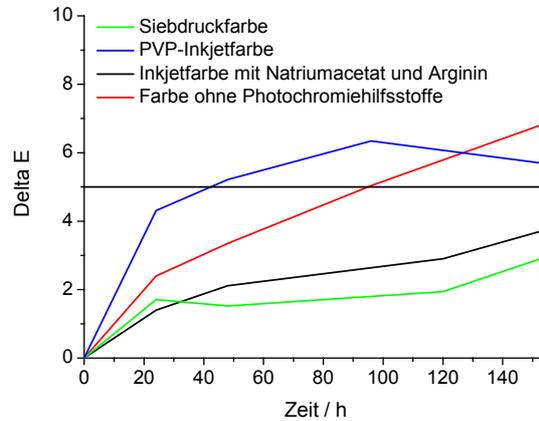


Abbildung 62: Langzeit-Temperaturuntersuchung bei 80°C und 0% rLF an PM-Inkjetdrucken.

Wird die gleiche Untersuchung bei 50% rLF durchgeführt, so lässt sich innerhalb von 9 Stunden eine starke Denaturierung und Gelbfärbung der Druckproben beobachten. Die Messung der Farbwerte gibt allerdings keine Aussage darüber, wie sich die Proben spektroskopisch verändern. Im Folgenden werden daher spektroskopische Untersuchungen an der nicht-photochromen PM-Inkjetttinte vorgestellt, die sich vorher als relativ instabil gezeigt hat.

Werden PM-Inkjetdrucke 15 min bei 0% rLF und 70 °C klimatisiert, so ist nur eine sehr geringe spektrale Änderung festzustellen. Bei 80% rLF und 70 °C kommt es zu einer starken Abnahme und einen hypsochromen Shift der Bande bei 570 nm.

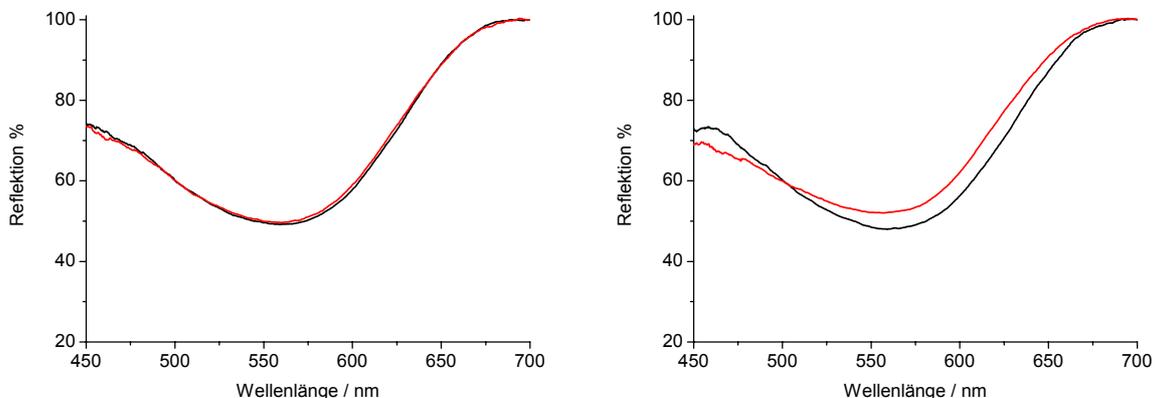


Abbildung 63: Kurzzeit-Temperaturuntersuchung über 15 min bei 70°C an PM-Inkjetdrucken: Links: 0% rLF; Rechts: 80% rLF.

Diese Untersuchung wurde bei 5 unterschiedlichen Werten rLF in 20% Schritten durchgeführt. Unterhalb von 60% rLF ist nur eine sehr schwache Veränderung zu beobachten. Die spektrale Abnahme beträgt bei 20% und 40% rLF um 1,5% und bei 0% rLF 0,5%. Bei 60% und 80% rLF ist eine stärkere Abnahme zu beobachten, die um 4,5% liegt. Es gibt demnach einen Sprung zwischen 40% und 60%, was im Einklang mit den in Kapitel 5.5 beschriebenen Erkenntnissen steht, dass unterhalb von 60% rLF eine Veränderung im BR stattfindet. Es ist von einer geringeren Beweglichkeit der Polypeptidketten bei geringerer Feuchtigkeit auszugehen^{94, 95} und diese verminderte Beweglichkeit scheint den Phasenübergang zu verlangsamen. Der thermische Phasenübergang des BRs bei 70 °C verläuft in Lösung wie in Kapitel 4.2.2 beschrieben reversibel. Werden die klimatisierten Proben nach 3 Tagen erneut gemessen, so ist eine Veränderung zu beobachten. Die Hauptbande wird wieder bathochrom verschoben, aber sie nimmt auch weiter ab. Wird die Probe hingegen über 3 Tage bei 80% rLF und 30 °C klimatisiert, so zeigt sich wieder die ursprüngliche Reflektion.

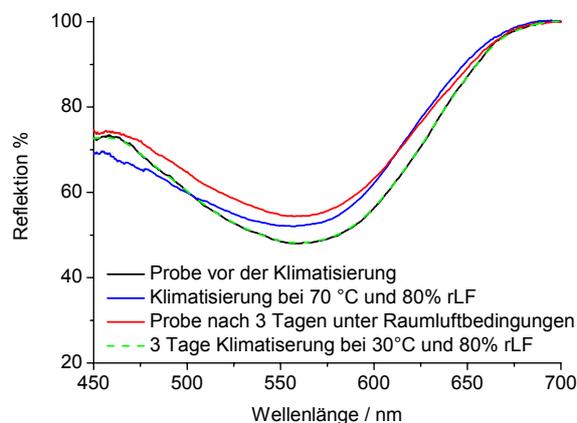


Abbildung 64: Reversibler Phasenübergang in PM-Druckfarben bei 70°C.

Der erste Phasenübergang der PM verläuft auch in applizierten PM-Inkjetttinten reversibel. Die Inhaltsstoffe der Tinte wie das Tensid und Antifoam A destabilisieren die PM nicht. Feuchtigkeit hat einen großen Einfluss auf die Geschwindigkeit des Phasenüberganges. Unterhalb von 60% rLF verläuft der Phasenübergang sowohl bei der Hin-, als auch bei der Rückreaktion wesentlich langsamer ab. Die Beweglichkeit der Polypeptidsegmente ist bei niedriger rLF soweit eingeschränkt, dass der Phasenübergang kinetische gehemmt ist.

6.3 Lichtstabilität

Lichtechtheit ist allgemein die Beständigkeit von Farben gegenüber der Einwirkung von Licht und UV-Strahlung. Sie wird definiert als die Kapazität eines Druckes bei Belichtung die optische Dichte nicht zu verringern, und die Farbe dabei nicht zu ändern. Die Degradation von Farben wird hauptsächlich durch die im Sonnenlicht enthaltene energiereiche UV-Strahlung hervorgerufen. Der UV-Anteil der Sonnenstrahlung reicht von 400-293 nm. Kurzwellige Strahlung unter 293 nm wird durch die Atmosphäre absorbiert.

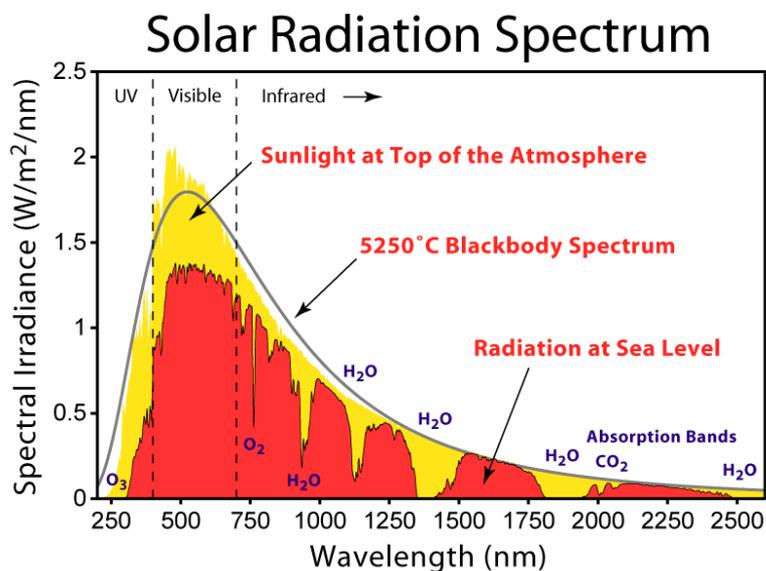


Abbildung 65: Spektrum der natürlichen Sonnenstrahlung oberhalb der Atmosphäre (gelb) und auf Höhe des Meeresspiegels (rot).⁹⁶

Durch das UV-Licht werden in den Farbschichten und auch in den Bindemitteln photochemische Prozesse ausgelöst, die einen Alterungsprozess bzw. ein Ausbleichen verursachen. Meist kommt es zu einer Bindungsdissoziation die zu einer Farbveränderung führt.

Feuchtigkeit besitzt bei diesen Prozessen einen katalytischen Effekt; d.h. die Bildung von Peroxyden durch Autooxidationsprozesse ist auf UV-Bestrahlung von organischen Materialien in Gegenwart von Wasser zurückzuführen.⁹⁷ Die Peroxyde bewirken wiederum einen Abbau der Farbstoffe.

Eine direkte Prüfung der Beständigkeit von Proben gegen Tageslicht ist sehr zeitaufwendig, da die Veränderungen meist nur sehr langsam erfolgen, zusätzlich unterliegt Tageslicht starken Schwankungen und ist von Region zu Region unterschiedlich (Südeuropa / Nordeuropa).

Um schnell vergleichbare Aussagen treffen zu können sind Methoden entwickelt und genormt worden, die einen tageslichtähnlichen Belichtungsvorgang simulieren. Meist werden, um in akzeptabler Zeit Prüfergebnisse zu erhalten, Druckproben bei Lichtechtheitsprüfungen dem Licht einer Xenon-Bogenlampe ausgesetzt. Die gegenüber dem Tageslicht vielfach höhere Emission der Xenon-Bogenlampe wird durch Filterung in ihrer spektralen Verteilung der Globalstrahlung möglichst gut angepasst.

Die Lichtechtheit wird in der DIN/ISO-Norm 12040 als die Beständigkeit von Norm-Druckproben gegen die Einwirkung von Xenonlicht, ohne direkten Einfluss der Witterung, beschrieben. Norm-Druckproben werden eingesetzt, da die Lichtbeständigkeit nicht nur von der Druckfarbe, sondern auch vom dem Bedruckstoff, dem Farbauftrag und dem Rastertonwert abhängt. Eine allgemeinere Prüfung der Lichtechtheit kann nach DIN 54004 erfolgen. Die Bewertung der Farbveränderung einer bestrahlten Probe erfolgt nach DIN 54004 mit Hilfe der Blauwollskala. Die Blauwollskala dient als Lichtechtheitsmaßstab und besteht aus acht blauen, in ihrer Lichtechtheit abgestuften Typfärbungen auf Wollgewebe. Die Typfärbung ist ungefähr so abgestuft, dass ein Übergang zur nächst höheren Stufe in etwa einer Verdopplung der erforderlichen Bestrahlungszeit entspricht. Je höher der Wert, desto besser ist die Farbqualität. Als Lichtechtheitsnote für eine Probe gibt man die Zahl des Blauwollstreifens an, der gleichzeitig mit der Probe zu einem abgedeckten, d.h. unbestrahlten, Teil einen deutlichen (bis Stufe 6, danach einen gerade erkennbaren) Farbunterschied aufweist.

Die Bewertung der Druckproben kann nach ISO 105 A02 über einen Graumaßstab, der Farbveränderungen in fünf verschiedene Stufen unterteilt, erfolgen. Da einige Farbveränderungen über einen Graumaßstab nur schlecht zu bewerten sind, hat die Forschungsgemeinschaft Druck e.V. eine messtechnische Bestimmung der Lichtechtheit über den Farbabstand nach CIELab erarbeitet. Über den CIE-Lab-Farbraum können Farben in einer Art, wie sie das menschliche Auge wahrnimmt bewertet werden (siehe Kapitel 3.3.5). Als ein deutlich erkennbarer Farbunterschied, wie in der DIN 54004 beschrieben, wird ein Farbunterschied von $\Delta E^* = 5$ gewertet. Die messtechnische Bewertung der Lichtechtheit ist jedoch im Gegensatz zur visuellen Überprüfung nicht normiert.

Zur Belichtung der Druckproben auf Siebdruck- und Inkjetdruckbasis wurde das Belichtungsgerät vom Typ XLS+ (ATLAS, Gelnhausen) eingesetzt. Ein Querschnitt

durch das Belichtungsgerät ist in der Abbildung 66 zu sehen. Während sichtbares und UV-Licht möglichst vollständig auf die Probenebene gelenkt wird, wird die Infrarotstrahlung durch eine selektiv reflektierende Schicht abgeblockt

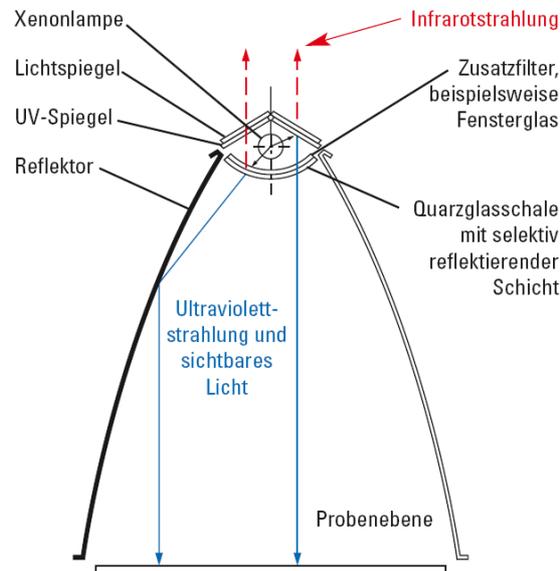


Abbildung 66: Querschnitt durch das Belichtungsgerät Suntest XLS+. ⁹⁸

Xenon-Bogenlicht erzeugt ein nahezu kontinuierliches Lichtspektrum mit Wellenlängen ab 250 nm. Für die Prüfung der Lichtechtheit werden deshalb Filter eingesetzt. Zur Simulation direkter Sonneneinstrahlung, z.B. für den Einsatz von Farben im Außenbereich, gibt es Spezialgläser, die UV-Licht ab 293 nm absorbieren. Zur Prüfung der Lichtechtheit bei Simulation des Sonnenlichtes hinter Fensterglas wird nach DIN 54004 die Verwendung eines Filters empfohlen, der UV-Strahlung kleiner als 310 nm vollständig absorbiert. Die Durchlässigkeit des Filters muss im Wellenlängenbereich zwischen 380 nm und 700 nm wenigstens 90% betragen.

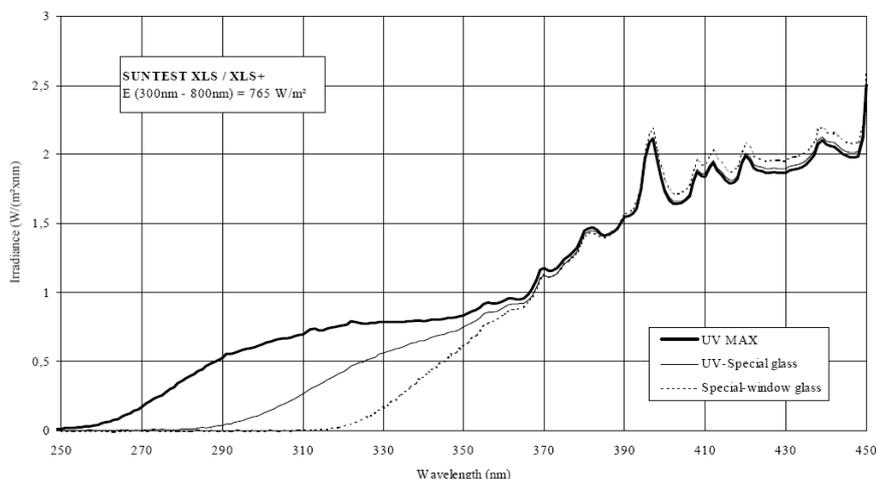


Abbildung 67: Gefilterte und ungefilterte Spektren des Xenon-Bogenlichtes im Suntest XLS+. ⁹⁹

Um photoinitierte Abbauvorgänge zu verhindern können Farbschichten durch Lichtschutzmittel geschützt werden. Lichtschutzmittel sind Additive, die die Alterung der Farbe verhindern oder verzögern sollen. Hierzu können folgende Strategien angewendet werden:¹⁰⁰

- UV-Absorber (Wandeln die UV-Strahlung in thermische Energie um).
 - Als Zusatz in der Farbschicht
 - Als Zusatz in einer Opferschicht
- Radikalfänger (Deaktivieren durch UV-Strahlung gebildete Radikale).
- Antioxidantien (Verhindern die Oxidation von Farbstoffen).

Die Schutzwirkung von UV-Absorbern beruht auf der Umwandlung von UV-Strahlung in Wärmeenergie durch thermische Übergänge. Das Ausgangsprodukt und Endprodukt sind bei diesen Reaktionen identisch. Für ihre Wirkung müssen diese Substanzen im UV-Bereich eine möglichst hohe Eigenabsorption besitzen und es sollten möglichst wenige Nebenreaktionen stattfinden.

Diese Voraussetzungen erfüllen neben einigen Anderen vor allem 2-Hydroxybenzophenone und 2-Hydroxyphenylbenzotriazole, die zugleich die technisch wichtigsten UV-Absorber sind. Diesen Substanzen ist gemeinsam, dass sie eine Phenolgruppe besitzen, die intramolekular über eine Wasserstoffbrückenbindung an ein Heteroatom gebunden ist.

Die 2-Hydroxyphenylbenzotriazole (Handelsname Tinuvin) bieten, wie bei den folgenden Transmissionsspektren zu sehen ist, den umfangreichsten Schutz gegen UV-Strahlung.

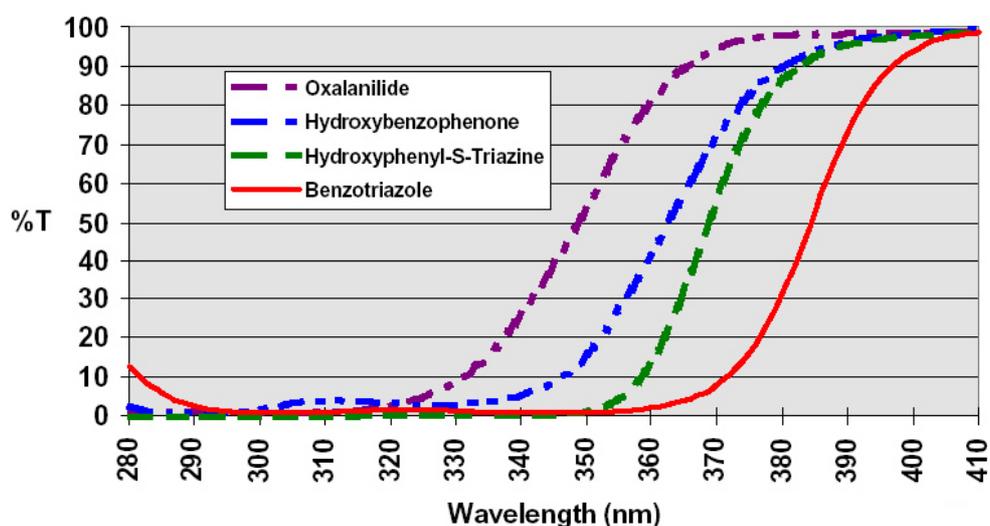


Abbildung 68: Transmissionsspektren verschiedener UV-Absorber der Klassen: Oxalanilide, Hydroxybenzophenone, Hydroxyphenyl-S-Triazine Benzotriazole.¹⁰¹

Die Reaktion der 2-Hydroxyphenylbenzotriazole mit Licht und die anschließende strahlungslose Desaktivierung sind relativ gut untersucht. Im Grundzustand liegen 2-Hydroxyphenylbenzotriazole in der Phenolform vor. Im angeregten Zustand nimmt die Azidität der OH-Gruppe und die Basizität des Stickstoffatoms zu, so dass nach Aufnahme eines Lichtquants und der Bildung des angeregten Zustandes ein Protonentransfer stattfindet und ein Zwitterion entsteht.

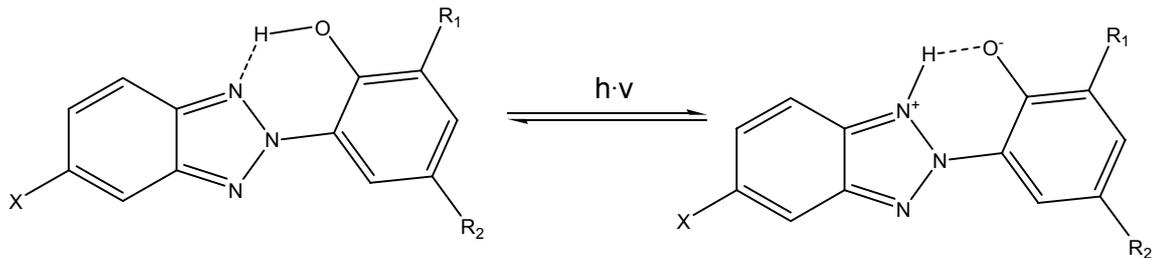


Abbildung 69: Reaktion der strahlungslosen Desaktivierung der 2-Hydroxyphenylbenzotriazole.

Die Energiedifferenz in der Chinonform vom Angeregten zum Grundzustand ist so gering, dass der Übergang thermisch erfolgen kann. Im Grundzustand ist wiederum die Phenolform die stabilere Form, so dass erneut ein Protonentransfer stattfindet.¹⁰²

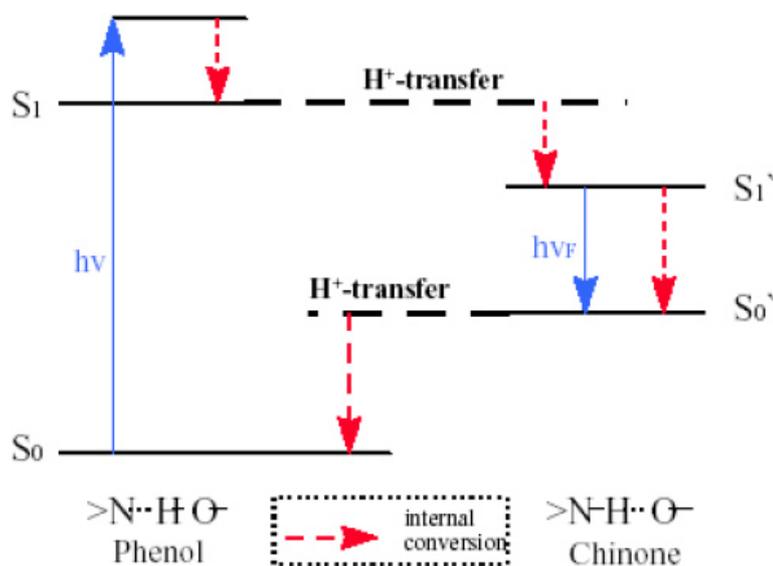


Abbildung 70: Mechanismus eines UV-Absorbers des 2-Hydroxyphenylbenzotriazol-Typs.¹⁰¹

Lichtstabilitätsuntersuchungen

In den Arbeiten von NEEBE¹ und FISCHER² wurde die Photodegeneration von PM-Druckproben mit Hilfe unterschiedlicher Filtern mit Cut-On's von 320 bis 450 nm durch UV-Strahlung untersucht. Bei diesen Untersuchungen hat sich gezeigt, dass nicht photochrome PM_{WT}-Siebdruckproben von UV-Licht bis 360 nm und photochrome PM_{D96N}-Tampondruckfarben von UV-Licht bis 400 nm schnell degeneriert werden. BR besitzt demnach gegen UV-Strahlung unter 360 nm eine geringe Stabilität. Um Druckfarben vor der UV-Strahlung zu schützen können verschiedene Strategien verfolgt werden. Eine Möglichkeit ist das Einbringen von absorbierenden Substanzen in die Farbe, eine andere das Aufbringen einer zweiten UV-absorbierenden Schicht, einer so genannten Opferschicht.

Die Photodegeneration von BR durch harte UV-Strahlung ($\lambda = 254 \text{ nm}$) wurde bereits untersucht.^{89, 103} Dabei wurde postuliert, dass es innerhalb des Proteingerüsts zur Generierung eines Radikals kommt, dass mit dem Retinal reagiert und somit zu einer Photodegeneration führt. Das Innere des Proteingerüsts ist für wasserlösliche Radikalfänger unzugänglich, so dass deren Einsatz sich nicht eignet, um diesen Abbaumechanismus zu unterbinden.

Im Folgenden wurde untersucht, welche Verbesserungen in der Lichtstabilität durch UV-absorbierende Substanzen in der Farbschicht und das Aufbringen einer Opferschicht erzielt werden können. Als Beschichtung wurden ein UV-absorbierender Klarlack mit dem UV-Absorber Tinuvin 1130 (cut-on 400 nm) und UV-absorbierende Polymerfolien (cut-on 315 nm) getestet.

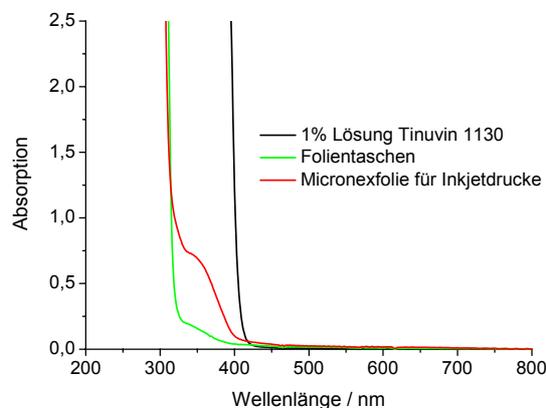


Abbildung 71: Absorptionsspektren der verschiedenen eingesetzten UV-Schutzbeschichtungen.

Zur Beurteilung der Farbveränderung von belichteten Druckproben wurden die Blauwollstreifen 1-4 mitbelichtet. Die Bewertung der Farbveränderung erfolgte über die Farbmessung mit einem Handmessgerät vom Typ Color-Guide 45/0 (BYKGardener, Geretsried).

Belichtungen wurden ohne und mit Fensterglasfilter (310 nm Cut-On) durchgeführt. Die Bestrahlungsstärke wurde auf 500 W/m^2 eingestellt, die Schwarzstandardtemperatur betrug 50°C . Da bei PM-Druckproben zu Beginn der Belichtung die stärkste Farbveränderung erfolgt, wurden die Belichtungszyklen von kürzeren zu längeren Bestrahlungsdosen variiert. Es wurden nur Druckproben auf normalem Papier bestrahlt, da Glossypapier eine schnelle Verfärbung zeigt.

Zunächst wurden Lichtstabilitätsuntersuchungen an Siebdruckfarben durchgeführt, um die unterschiedlichen Lichtschutzstrategien zu überprüfen. Die Integration von UV-Schutzmitteln ist in Siebdruckfarben leicht durchführbar, so dass sich die Entwicklung einer PM-Inkjettinge mit UV-Absorber als Inhaltsstoff erst lohnt, wenn sich diese Strategie als erfolgreiche Methode herausstellt.

In Abbildung 72 ist eine Lichtstabilitätsuntersuchung an Siebdruckfarben mit und ohne UV-Absorber (UVA) als Inhaltsstoff gezeigt. Die denaturierende Wirkung des UV-Lichtes zeigt sich deutlich bei Durchführung des Tests mit und ohne Glasfilter (Cut-On 310 nm). Der UV-Anteil des Xenonbogenlichtes von 250-310 nm bei Belichtung ohne Glasfilter führt zu einer wesentlich schnelleren und stärkeren Degeneration der PM-Siebdruckfarbe. Ein entscheidender Unterschied zwischen den beiden Proben mit und ohne UV-Absorber lässt sich jedoch nicht feststellen.

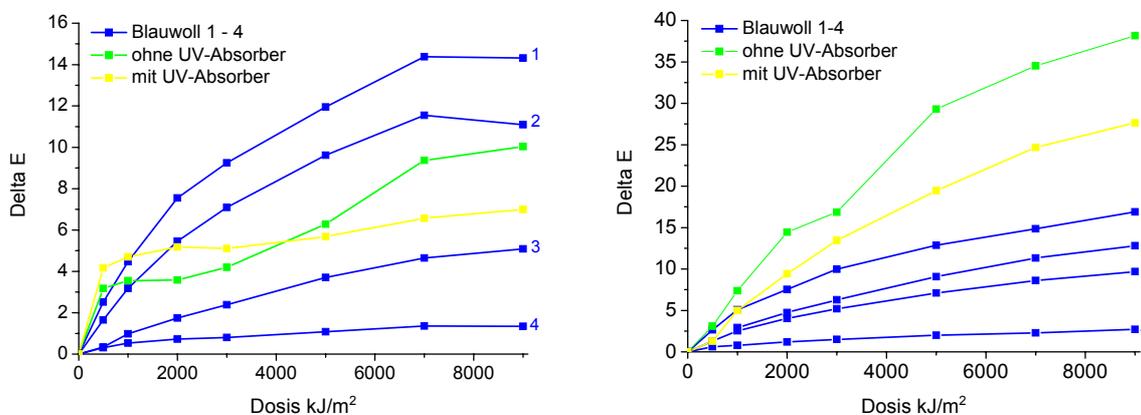


Abbildung 72: Sunttest ohne (Rechts) und mit einem Glasfilter (Cut-On 310 nm) (Links).

Durch Zugabe von UV-Absorbern zu einer Farbe nimmt die Intensität der UV-Strahlung von der Farboberfläche her ab, das heißt, sie ist im oberen Bereich der Farbschicht noch nicht entscheidend verringert. Die Wirkung der UV-Absorber kommt erst bei dickeren Farbschichten zum Tragen, was sich in Abbildung 73 zeigt, in der unter anderem rechts eine Lichtstabilitätsuntersuchung an Dreifach-Siebdruckfarben, mit (gelb) und ohne (grün) UV-Absorber zu sehen ist. Durch den Zusatz des UV-Absorbers wird in der dickeren Farbschicht eine Verbesserung in der Lichtstabilität erreicht.

Weiter sind in Abbildung 73 Untersuchungen zur Schutzwirkung einer zweiten UV-absorbierende Schicht gezeigt. Es wurde jeweils eine 5%ige Tinuvin 1130 Lösung (Ciba, Basel) in Toluol und eine Micronexfolie (GMP, Polch) auf die Proben aufgebracht.

Bei den Tests, die ohne Fensterglasfilter durchgeführt wurden, zeigt sich durch die Beschichtung eine deutliche Verbesserung in der Lichtstabilität, die im Bereich des Blauwollstreifens 3 liegt. Die Micronexfolie schützt die Drucke trotz geringerer Absorption im UV-A-Bereich etwas besser als die Beschichtung mit Tinuvin 1130, was durch eine geringe Schichtdicke der UV-Absorber-Beschichtung zu erklären ist.

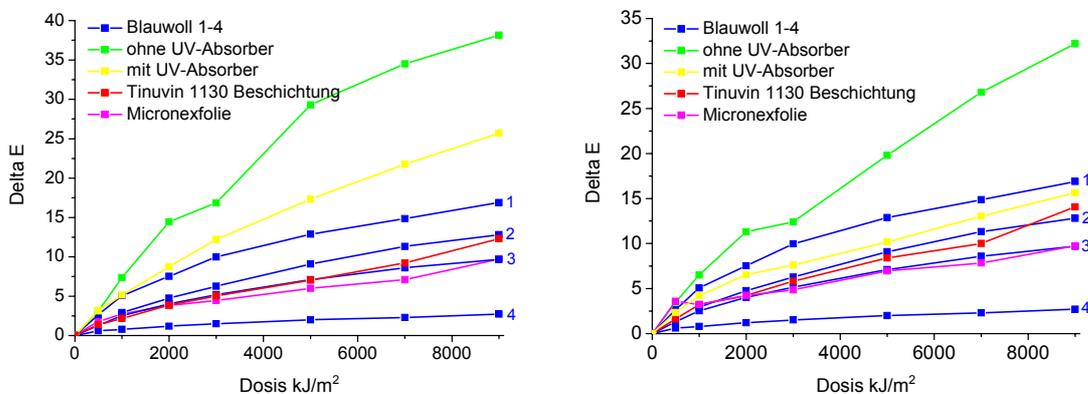


Abbildung 73: Suntest ohne Glasfilter. Vergleich Einfach- und Dreifachdruck.

Die Schutzwirkung durch einen absorptiven Zusatz ist auch bei den dickeren Dreifach-Siebdruckfarben noch nicht ausreichend. Eine deutliche Verbesserung in der Lichtstabilität wird erst durch das Auftragen einer zweiten Schicht erreicht, bei der alle Farbschichten gleichmäßig geschützt werden.

Die weiteren Untersuchungen wurden an Inkjettinten durchgeführt. Ein 2-Schichtaufbau mit einer UV-absorbierenden Opferschicht als obere Schicht hat

sich zum Schutz der Siebdruckfarben als am wirksamsten erwiesen. Um zu testen, ob sich die Lichtstabilität durch eine stärkere Absorption der UV-Strahlung noch verbessern lässt, wurde zusätzlich zu einem UV-absorbierenden Klarlack noch ein Laminat aufgebracht. Als Laminat wurden hier Folientaschen (GMP, Polch) verwendet, die sich zur Herstellung von Ausweisen eignen. Die Micronexfolie zeigte zwar gute Ergebnisse, eignet sich aber nicht für eine allgemeine Anwendung.

Die Lichtstabilität von Farben hängt allgemein von ihren Inhaltsstoffen ab, die von PM-Farben auch vom pH-Wert.¹⁰⁴ Um den Einfluss der basischen Photochromiehilfsstoffe auf die Lichteinheit zu überprüfen, wurde eine nicht photochrome PM-Inkjetttinte (Links) ohne Zusatzstoffe und eine photochrome PM-Inkjetttinte mit Arginin und Natriumacetat (Rechts) getestet

Ohne UV-Filter und Lichtschutzmittel verläuft der Abbau der PM-Inkjetttinten, wie bei den Siebdruckfarben durch den hohen UV-Anteil des ungefilterten Lichtes der Xenonbogenlampe sehr schnell. Durch die Beschichtung mit dem UV-absorbierenden Klarlack kann eine geringe Verbesserung erzielt werden, durch den Dreischichtaufbau verbessert sich die Lichtstabilität der Inkjetdrucke erheblich.

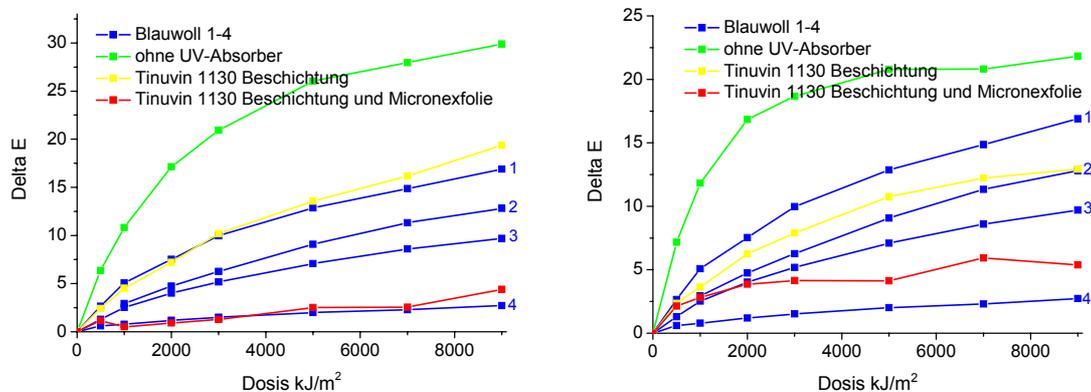


Abbildung 74: Links: ohne Photochromiehilfsstoffe; Rechts: mit den Photochromiehilfsstoffen Arginin und Natriumacetat.

Die nicht photochrome PM-Inkjetttinte zeigt im Dreischichtaufbau eine deutlich bessere Lichtstabilität, die im Bereich des Blauwollstreifens 4 liegt. Die Lichtstabilität der Farbe mit Natriumacetat und Arginin wird durch den Dreischichtaufbau zwar auch verbessert, aber nicht so gut wie bei der Farbe ohne Photochromiehilfsstoffe. Interessanterweise verfügt diese Farbe jedoch ohne Laminat über eine bessere Lichtstabilität. Die Lichtstabilität der PM-Inkjetttinten wird demnach durch die Photochromiehilfsstoffe Arginin und Natriumacetat beeinflusst. Den größten Einfluss

hat dabei wahrscheinlich der höhere Feuchtigkeitsgehalt der Inkjettinten mit Natriumacetat. Unter den Testbedingungen kommt es zu einer hohen thermischen Belastung der Proben, die in offenen Schichten wie in Kapitel 6.4 gezeigt wird, zum Verdunsten der Feuchtigkeit führt. Feuchtigkeit wirkt im Zusammenhang mit einer thermischen Belastung denaturierend auf BR (Kapitel 6.2). Bei einlamierten Proben bleibt die Feuchtigkeit in der Druckfarbe erhalten und es kommt durch die thermisch bedingte Denaturierung zu einem schnelleren Abbau des BRs und entsprechend zu einer Farbveränderung. Dass Feuchtigkeit unter diesen Testbedingungen den photochemischen Abbau von BR begünstigt wurde auch schon von NEEBE¹ beschrieben. Der Einfluss des pH-Wertes auf die Lichteinheit der PM-Inkjetdruckfarben ergibt sich bei dieser Untersuchung kein eindeutiger Trend.

Aus den bisherigen Untersuchungen wird deutlich, dass BR durch UV-Strahlung, vor allem UV-B und UV-C mit Wellenlängen unter 310 nm, degeneriert wird. Dies ist auch zu erwarten, da es der Wellenlängenbereich ist, indem die aromatischen Aminosäuren des BRs eine starke Absorption zeigen. Um das Chromophor Retinal sind gehäuft aromatische Aminosäuren angeordnet, die für den Opsinshift des Retinals mitverantwortlich sind.¹⁸ Eine photochemische Reaktion dieser Aminosäuren würde zu einer Veränderung der elektrostatischen Umgebung des Retinals und somit zu einer Veränderung des Opsinshifts führen. Es wurde auch schon postuliert, dass ein in den aromatischen Aminosäuren photochemisch generiertes Radikal auf das Retinal übertragen werden kann und so eine Photodegradation des BRs verursacht wird.¹⁰³

Bei Lichteinheituntersuchungen muss grundsätzlich zwischen Außen- und Innenanwendungen unterschieden werden. Im Gegensatz zur Außenbewitterung sind Proben hinter Fensterglas nur UV-Strahlung ausgesetzt, deren Wellenlänge größer als ca. 350 nm ist.¹⁰⁵ Die Lichteinheitprüfung nach DIN 54004 für Anwendung in Büroräumen schreibt bei der Prüfung von Druckproben gegen intensives Xenonbogenlicht die Verwendung eines Fensterglasfilter (cut-on 310 nm) vor.

Die Folgenden Lichteinheitprüfungen wurden nach DIN 54004 an unterschiedlichen PM-Inkjetdruckproben vorgestellt. Unter den vorgeschriebenen

Bedingungen verfügen PM-Inkjetdrucke über eine Lichtechtheit von Blauwoll 2-3 (Abbildung 75). Nur die Farbe ohne Photochromiehilfsstoffe zeigt eine geringere Lichtechtheit.

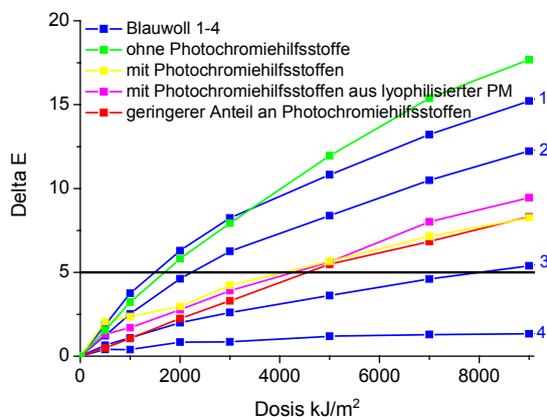


Abbildung 75: Lichtechtheitsprüfung nach DIN 54004 an ungeschützten PM-Inkjetdrucken.

BR wird, wie auch andere organische Pigmente oder Farbstoffe, in Druckfarben auch von UV-A-Strahlung denaturiert.^{2, 105} Die PM-Inkjetdrucke müssen deswegen zusätzlich vor UV-A-Strahlung geschützt werden. Die in den vorherigen Versuchen verwendeten Laminatfolien, Folientaschen und Micronexfolien, zeigen ein cut-on von 315 nm, absorbieren aber den UV-A-Anteil der UV-Strahlung nur gering.

Bei der folgenden Lichtechtheituntersuchung (Abbildung 76) wurden PM-Inkjetdrucke in Folientaschen eingebunden. Hierdurch wurde eine geringe Verbesserung in der Lichtechtheit der Druckprobe erreicht, die Absorption der UV-A-Strahlung des Laminates war aber nicht ausreichend, um die Lichtechtheit der Proben entscheidend zu verbessern. Für einen technischen Einsatz sollten die Drucke, wie andere kommerzielle Inkjetintinten, eine Lichtechtheit von Blauwoll 3 besitzen.

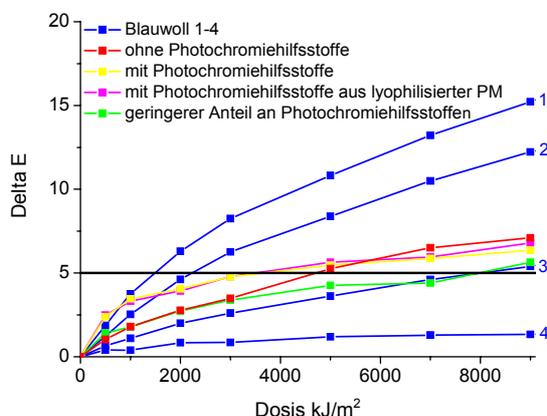


Abbildung 76: Lichtechtheitsprüfung nach DIN 54004 an einlaminieren PM-Inkjetdrucken.

Zur Verbesserung der Lichtstabilität von PM-Inkjetdrucken ist auch ein Schutz vor UV-A-Strahlung notwendig. Hier bieten die UV-Absorber der Benzotriazolklasse (Tinuvin) einen wirksamen Schutz, die bisherigen Beschichtungen mit der 5%igen Tinuvinlösung zeigten allerdings noch keine befriedigenden Ergebnisse. Um einen guten Lichtschutz durch das Aufbringen nur einer Schicht zu erreichen, wurden für die Lichteichtheitsprüfung (Abbildung 77) die PM-Inkjetdrucke mit einem nicht vernetzenden Klarlack, bestehend aus 10% Polystyrol und 10% Tinuvin 1130, in Toluol gelöst, beschichtet.

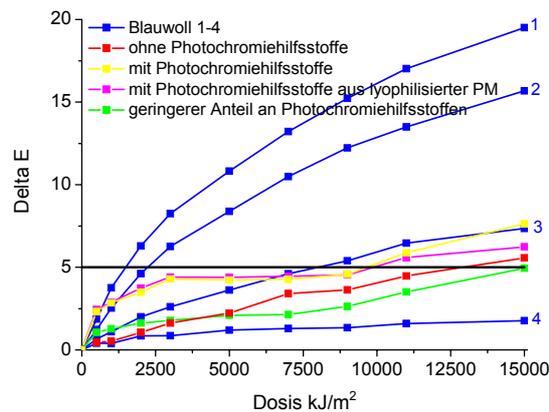


Abbildung 77: Lichteichtheitsprüfung nach DIN 54004 an mit UV-absorbierenden Klarlack beschichteten PM-Inkjetdrucken.

Die Lichtstabilität der PM-Inkjetdrucke unterscheidet sich aus den oben genannten Gründen abhängig von der Konzentration der Photochromiehilfsstoffe. Die PM-Inkjetdruckfarben mit gleicher Konzentration an Photochromiehilfsstoffen zeigen ein nahezu identisches Verhalten in der Lichteichtheit, unabhängig davon, ob die Farbe aus lyophilisierter PM oder aus einer Suspension ohne Lyophilisierungsschritt hergestellt wurde. Bei einem geringeren Anteil an Photochromiehilfsstoffen (grün) erfolgt die Farbveränderung der Proben etwas langsamer.

Durch einen Klarlack geschützt, der UV-Licht (< 400 nm) absorbiert, wird von allen PM-Inkjetdruckproben die Lichteichtheitsstufe Blauwoll 3 erreicht. Für eine spätere Anwendung könnte ein entsprechender UV-absorbierender Klarlack auch per Inkjetdruck aufgetragen werden. Entsprechende Anwendungen wurden bereits beschrieben.¹⁰⁶

Lichtechtheitsprüfungen erfolgen gegen das intensive Licht einer Xenonbogenlampe, um in akzeptabler Zeit vergleichbare Ergebnisse zu erhalten. Bei den Testbedingungen, die Tageslicht ähnliche Verhältnisse schaffen sollen, entstehen trotz der Filterung des IR-Lichtes in der Probenkammer relativ hohe Temperaturen von bis zu 50°C. Eine hohe Lichtintensität führt in Kombination mit einer erhöhten Temperatur zu einem irreversiblen Bleichen des Bakteriorhodopsins.^{89, 104} Dieser Bleichprozess ist bei niedrigeren Lichtintensitäten in dieser Form nicht zu erwarten, so dass die Bedingungen im Suntest stärker denaturierend wirken, als dies unter Tageslichtbedingungen zu erwarten ist.

Auch ist zu beachten, dass der Feuchtigkeitsverlust allein schon eine spektrale Veränderung verursacht und die intensive Bestrahlung des Xenonbogenlichtes durch den Blauanteil der Strahlung ein permanentes Schalten zwischen den photochromen Zuständen verursacht.

Feuchtigkeit kann auch durch die Bildung von Peroxiden aufgrund der UV induzierten Autooxidation des Wassers einen katalytischen Effekt bei der Denaturierung von Farben bewirken, der durch Antioxidantien und Radikalfänger verringert werden kann. Die primäre Strategie sollte jedoch vorsehen UV-Licht so weit wie möglich durch geeignete Absorber zu filtern, da BR selbst auch gegen UV-Licht empfindlich ist. Ob und in welchem Maße der Zusatz Antioxidantien und Radikalfängern eine zusätzliche Stabilisierung der PM-Druckfarben bewirkt, sollte dennoch Gegenstand weiterer Forschung sein.

6.4 Schaltbarkeit photochromer PM-Druckfarben

Ein wichtiges Kriterium für die Beurteilung photochromer Materialien ist die Anzahl an Schaltzyklen, die zwischen beiden photochromen Zuständen ohne einen Verlust an Absorption durchgeführt werden können. Ein Verlust an Absorption kann während der photochromen Reaktion durch Nebenreaktionen auftreten.

Als organische photochrome Materialien sind Fulgide, Spiro- und Diarylethenverbindungen beschrieben. Es sind Fulgide bekannt, die nach 8.000 Schaltzyklen noch keine erkennbare Degeneration aufweisen.¹⁰⁷ Die gut untersuchten Diarylethenverbindungen zeigen in Lösung schon nach 800, und im Einkristall nach 10.000 Zyklen einen Verlust an Absorption von 20%.¹⁰⁸

Bei BR ist in Lösung eine Schaltbarkeit von über 1.000.000 Zyklen ohne merkliche Degeneration bekannt.¹⁰⁹ Untersuchungen zur Schaltbarkeit applizierter photochromer PM-Druckfarben werden im Folgenden vorgestellt.

Untersuchungen zur Schaltbarkeit applizierter Druckfarben gestalten sich schwieriger als entsprechende Untersuchungen in Lösung. Um trotzdem Messungen an Druckfarben zu realisieren wurde ein Gerät entworfen, bestehend aus einer Xenonhochdrucklampe, einem Farbfilterrad, durch das die Druckfarbe geschaltet wird, und einer Messzelle, die Veränderungen der Druckfarbe in Reflektion misst.

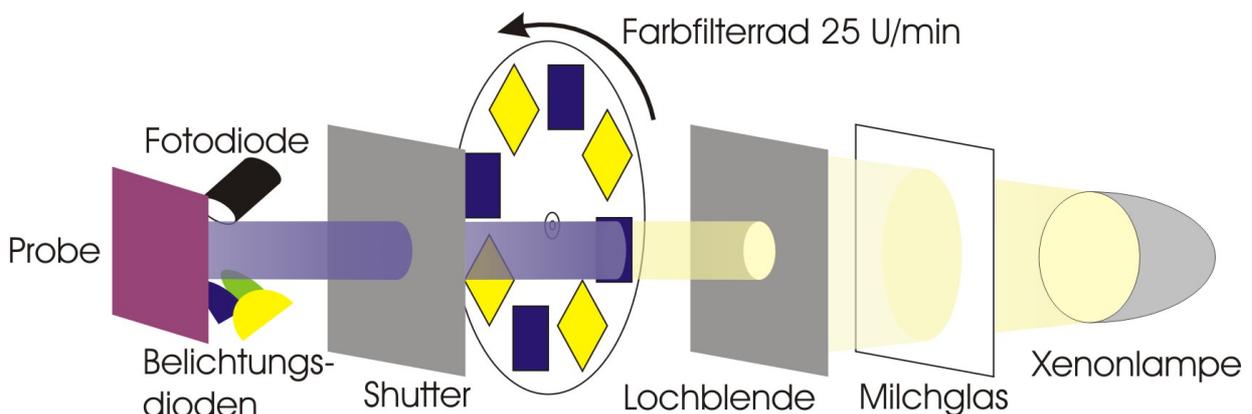


Abbildung 78: Schematischer Aufbau des Zyklustestgerätes.

Die Schaltung des BRs zwischen den beiden Zuständen verläuft in Druckfarben langsamer, als in Lösung. Um in akzeptabler Zeit möglichst viele Zyklen durchführen zu können, wurde eine Xenonhochdrucklampe des Typs VIP R 120/P24 (Osram, München) mit sehr hoher Intensität (200.000 Lux) ausgewählt. Um diffuses Licht zu erzeugen ist vor der Xenonlampe eine Milchglasscheibe angebracht. Durch eine

Lochblende verkleinert trifft der Lichtstrahl auf die Farbfilter. Es wurden zwei verschiedene Kantenfilter eingesetzt, deren Absorptionsverhalten in Abbildung 79 dargestellt ist.

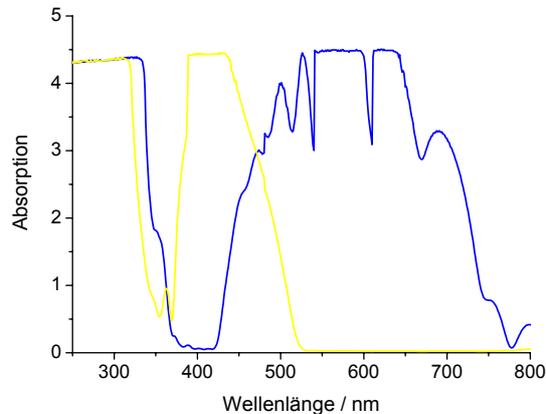


Abbildung 79: Absorptionsspektren der im Zyklustest eingebauten Kantenfilter.
Blau: Kantenfilter blaudurchlässig.
Gelb: Kantenfilter gelbdurchlässig.

Der gelbe Filter verfügt über einen cut-on von 530 nm und einer Durchlässigkeit von 25% (OD 0,6) im UV-Bereich zwischen 375 nm und 330 nm. Der blaue Filter ist im Bereich von 380 bis 430 nm durchlässig. Über den gelben Filter wird das BR in den M-Zustand und über den blauen zurück in den B-Zustand geschaltet. In dem Farbfilterrad sind jeweils 4 der Farbfilter eingebaut. Die Probe wird in der Messzelle angebracht, die während des Messvorganges durch eine Shutter abgedunkelt wird. In der Messzelle wird mittels einer Photodiode die Reflektion bei Belichtung mit einer in ihrer Intensität einstellbaren Diode von $\lambda_{\max} = 530$ nm gemessen. Es werden pro Messung 2 Messwerte aufgenommen, vor der ersten Messung wird die Druckprobe 30 Sekunden mit einer Diode von $\lambda_{\max} = 590$ nm belichtet, um sie in den M-Zustand zu schalten und vor der zweiten Messung wird sie 29 Sekunden mit einer Diode von $\lambda_{\max} = 410$ nm belichtet, um die in den B-Zustand zu schalten. Aus den beiden Messwerten kann der photochrome Hub als Farbabstand zwischen dem B- und M-Zustand berechnet werden

Um die maximale Geschwindigkeit, mit der das Farbfilterrad gedreht werden kann, zu ermitteln, wurden zeitaufgelöste Reflektionsspektren an Druckproben aufgenommen. Die Reflektionsmessungen wurden ebenfalls mit einer Xenonhochdrucklampe (XPO 75, Osram, München) durchgeführt, deren Beleuchtungsstärke bei Verwendung des gelben Filters mit 80.000 Lux jedoch etwas schwächer ist, als die der im Zyklustest

verwendeten Lampe. Trotz des Unterschiedes in der Beleuchtungsstärke kann durch die folgenden Messungen eine Einschätzung über die Bleichgeschwindigkeit der photochromen Proben mit einer Xenonhochdrucklampe entsprechend hoher Beleuchtungsstärke getroffen werden.

In Abbildung 80 sind die beschriebenen Reflektionsmessungen gezeigt. Als Weißstandard wurde das gleiche Papier wie bei der Messung der Probe verwendet, das Hintergrundsignal wurde bei abgedeckter Lampe aufgenommen.

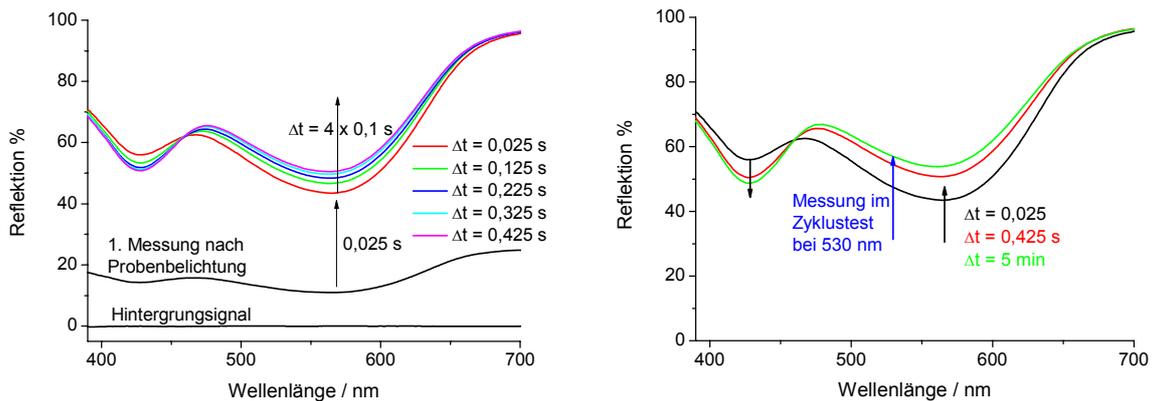


Abbildung 80: Geschwindigkeit des Bleichvorgangs bei 80.000 Lux. Links: Messungen mit einem Abstand von 0,1 Sekunden. Rechts: Messungen nach 0,5 Sekunden und 5 Minuten.

Für die Messung wurde die Probe zunächst mit Hilfe eines blauen Filters in den B-Zustand geschaltet, die Lampe abgedeckt, die Messung gestartet und die Abdeckung von der Lampe entfernt. Bei der ersten Messung wurde die Probe nicht über den gesamten Messzeitraum voll belichtet, so dass dieses Spektrum zwar nicht auswertbar ist, aber als Startzeitpunkt für die folgenden Messungen genommen werden kann. Der Bleichvorgang von BR verläuft exponentiell und ist bei dieser hohen Beleuchtungsstärke so schnell, dass das erste auswertbare Spektrum nach 0,025 s schon einen signifikanten M-Anteil aufweist. Nach 0,425 s ist nur noch eine geringe Veränderung in der Verteilung der Zustände festzustellen.

Wird die Probe weiter über 5 Minuten belichtet, so erhöht sich der Anteil des M-Zustandes nicht mehr signifikant. Eine Belichtungszeit von 0,425 s kann bei einer solch hohen Beleuchtungsstärke als ausreichend angesehen werden, um die Probe zum größten Teil in den M-Zustand zu schalten.

Untersuchungen mit dem Zyklustester wurden demnach mit einer Geschwindigkeit des Farbfilterrades von 15 U/min durchgeführt, was einer Belichtungszeit der Probe von 0,45 Sekunden pro Farbfilter entspricht.

Eine Geschwindigkeit von 15 U/min entspricht 60 Zyklen pro Minute. Alle 200 Zyklen, d.h. alle 200 Sekunden wurden Messungen an der Probe durchgeführt. Insgesamt wurden über 45.000 Zyklen belichtet, was einer Gesamtbelichtungszeit von 12,5 Stunden entspricht. Eine solche Zyklustestmessung ist in Abbildung 81 zu sehen. Das Intensitätssignal der Photodiode wurde in die Reflektion umgerechnet, mit dem unbedruckten Papier als Weißstandard und schwarzer Photopappe als Schwarzstandard.

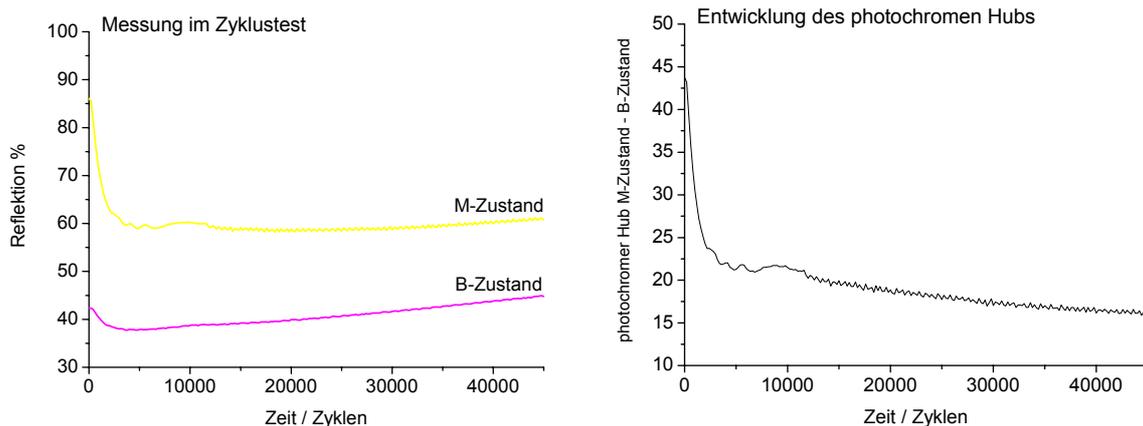


Abbildung 81: Messung im Zyklustest. Links: Verlauf der Intensität der Reflektion des M-Zustandes und des B-Zustandes. Rechts: Entwicklung des Photochromen Hubs.

Zu Beginn der Messung findet eine schnelle Veränderung der Probe statt. Die Zunahme der Reflektion bei 530 nm von der Messung des M-Zustandes bedeutet, dass die Farbschicht sich nach kurzer Zeit zu einem geringeren Anteil in den M-Zustand schalten lässt. Dieses Verhalten ist auf einen Feuchtigkeitsverlust der Druckprobe durch die Bestrahlung mit der hohen Intensität zurückzuführen. Danach findet eine kontinuierliche, durch einen photochemischen Abbau bedingte Abnahme der Reflektion statt. Der photochrome Hub fällt gleichzeitig aber nur leicht ab, so dass durch den photochemischen Abbau eine geringe Änderung in der Schaltbarkeit des Materials stattfindet.

Eine Untersuchung zum Einfluss der Feuchtigkeit ist in Abbildung 82 gezeigt. Zum einen wurde eine Druckprobe bei 0% rLF inkubiert und gemessen, der Abfall in der Reflektion ist nicht zu beobachten, zum anderen kommt es bei einer bei 80% rLF klimatisierten Probe, wie in Abbildung 81, zu einem schnellen Abfall in der Reflektion des M-Zustandes.

Weiterhin ist der photochrome Hub der Probe mit geringerer Luftfeuchtigkeit kleiner. Die Abhängigkeit des photochromen Hubs von der Feuchtigkeit ist bekannt und in Kapitel 5.5 näher beschrieben. Die Messung in Abbildung 82 ist nicht mit der Messung in Abbildung 81 in ihren Absolutwerten vergleichbar, da die Intensität der Messdiode zwischenzeitlich verändert und die Dioden neu ausgerichtet wurden.

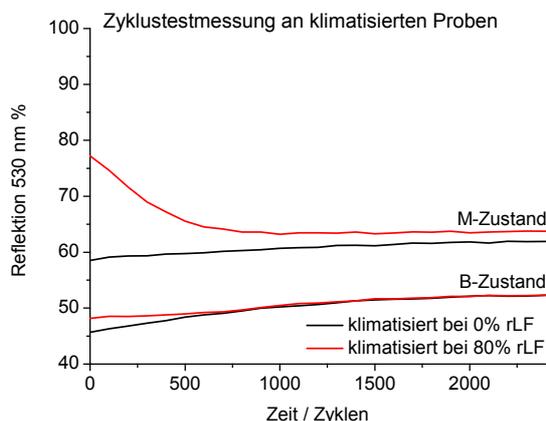


Abbildung 82: Zyklustestuntersuchung an bei 0% (schwarz) und 80% rLF (rot) klimatisierten Proben.

Bei der Zyklustestmessung kommt es zu einem photochemischen Abbau des BRs. Die entscheidende Frage ist, ob der photochemische Abbau durch den photochromen Schaltvorgang oder durch die Bestrahlung hervorgerufen wird. Um dies zu klären, ist zunächst die Bestrahlungsdosis, mit der die Probe über 12,5 Stunden bestrahlt wird, zu betrachten. Die Bestrahlungsdosis wurde per Photodiode vom Typ S1337BQ (Hamamatsu, Herrsching am Ammersee) bestimmt und beträgt bei Bestrahlung durch den gelben Filter 667 W/m^2 und beim blauen 300 W/m^2 . Dies entspricht, unter Berücksichtigung der Abschattung durch das Drehen des Farbfilterrades, bei einer Bestrahlungsdauer von 12,5 Stunden einer Bestrahlungsdosis von 14.000 kJ/m^2 . Bei Belichtungstests an Blauwollstreifen wurde nach Vergleich mit den Lichtechtheitsuntersuchungen eine vergleichbare Bestrahlungsdosis von 13.000 kJ/m^2 festgestellt (Blauwoll 2: $\Delta E = 14,83$). Bei einer solch hohen Bestrahlungsdosis wäre bei Lichtechtheitsuntersuchungen an entsprechenden PM-Druckproben (Abbildung 72) ein $\Delta E > 10$ zu erwarten und es wurde erwartungsgemäß ein $\Delta E = 10,5$ beobachtet.

Trennt man die Anteile der Bestrahlung, indem man bei stehendem Farbfilterrad nur mit blauem und gelbem Filter belichtet, so ist ebenfalls ein photochemischer Abbau zu beobachten.

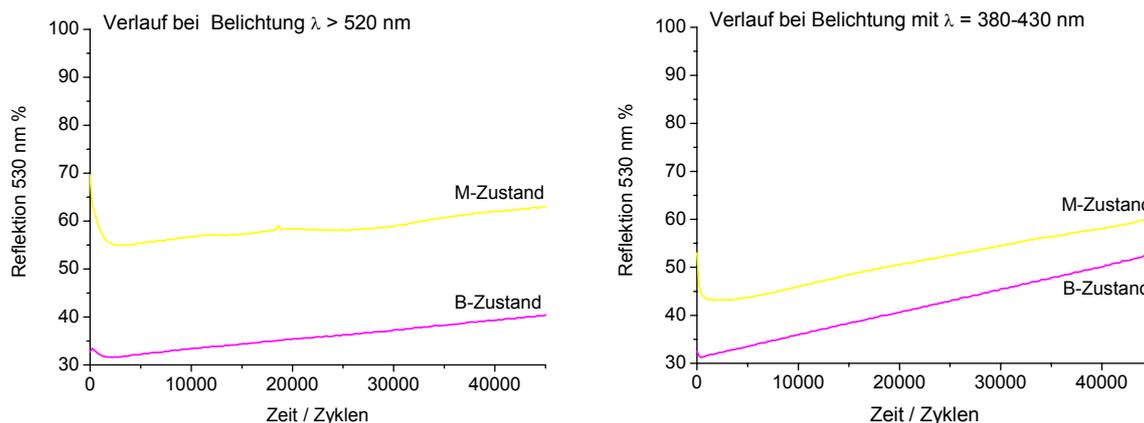


Abbildung 83: Belichtung bei stehendem Farbfilterrad. Links: mit blauem Filter; Rechts: mit gelbem Filter.

Bei blauer Belichtung (380-430 nm) verläuft der photochemische Abbau der Probe schneller, als bei gelber (cut-on 520 nm), die aber allerdings auch bis zu 25% der Strahlung zwischen 330 nm und 375 nm enthält. Bei den vorhergehenden Lichtechtheitsuntersuchung wurde eine Denaturierung durch UV-A-Licht von 310-400 nm festgestellt (Kapitel 6.3), eine Beschichtung der Probe mit einem UV-A-Absorber zeigt jedoch keine Unterschiede in der Messung, so dass der photochemische Abbau nicht durch den geringen UV-A-Anteil verursacht werden kann.

Obwohl es bei gelber Belichtung es aufgrund des thermischen Überganges vom M- in den B-Zustand zu einem gewissen Anteil an Schaltzyklen kommt, ist der photochemische Abbau bei blauer Belichtung schneller, bei der keine Schaltung zwischen den Zuständen erfolgt. Daraus folgt, dass die photochemische Degeneration nicht durch den Schaltprozess allein verursacht werden kann.

Bei gelber Belichtung ist der photochrome Hub höher, dies ist auf Unterschiede in der Schaltbarkeit durch verschiedene Hell- bzw. Dunkeladaptation zurückzuführen. Wie in Kapitel 2 beschrieben liegt BR unbelichtet dunkeladaptiert (all-trans Retinalkonfiguration) vor. Durch Belichtung der PM-Druckprobe mit Licht von 380-430 nm (blauer Filter) wird das BR zu einem geringeren Teil helladaptiert, als mit Licht von 520-800 nm (gelber Filter) und die photochrome Schaltbarkeit läuft mit einer geringeren Effektivität ab. Die Bestrahlung durch die Belichtungsdiode $\lambda = 590$ nm in der Messzelle über 30 Sekunden reicht nicht aus, um diese Unterschiede auszugleichen.

Der photochemische Abbau findet folglich bei Zyklustestmessungen auch ohne direkte photochemische Schaltung des BRs zwischen dem B- und M-Zustand statt. Um zu quantifizieren, ob das Material mit und ohne Schaltung mit gleicher oder ähnlicher Geschwindigkeit denaturiert wird, wurde aus den jeweiligen Kurven für gelbe und blaue Belichtung das Mittel gebildet und mit einem Abschattungsfaktor multipliziert. Der Abschattungsfaktor basiert darauf, dass das Farbfilterrad nicht nur aus Farbfiltern, sondern auch aus dem Rahmen besteht. Beim Drehen des Farbfilterrades wird die Probe immer wieder beschattet und nicht über den gesamten Zeitraum belichtet. Unterschiede in der Absorption der Druckproben wurden durch eine Normierung auf die Reflektion des B-Zustandes bei 45.000 Zyklen ausgeglichen.

$$I_{sim.} = \frac{(I_{Gelb} + I_{Lila})}{2} \cdot \frac{1}{0,65} \quad (16)$$

I_{Gelb} = Reflektion bei Belichtung mit gelbem Filter

I_{Lila} = Reflektion bei Belichtung mit blauem Filter

0,65 = Abschattungsfaktor

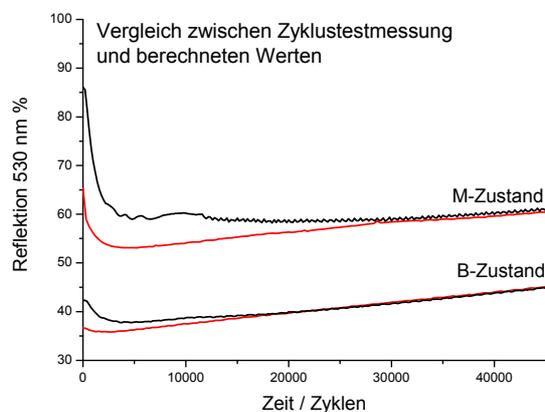


Abbildung 84: Gemessener (schwarz) und aus einzeln belichteten Proben berechneter Verlauf (Rot) der Zyklustestmessung.

Für das rechnerische Mittel der beiden einzelnen Belichtungsvorgänge und der Zyklustestmessung ergibt sich ein ähnlicher Kurvenverlauf. Die berechnete Steigung der Reflektion des B-Zustandes, die weniger durch Feuchtigkeit beeinflusst wird, stimmt sehr gut mit der Zyklustestmessung überein.

Nach den vorgestellten Untersuchungen wird der photochemische Abbau im Zyklustest primär durch den Belichtungs- und nicht durch den Schaltvorgang hervorgerufen, da die Degeneration des BRs auch ohne photochemische Schaltung in ähnlicher Geschwindigkeit abläuft. Es ist deswegen von einer wesentlich höheren Schaltbarkeit als 45.000 Zyklen auszugehen. Die Schaltbarkeit des BRs liegt demnach weit über der von bisher bekannten photochromen organischen Materialien. Des Weiteren bleibt die Schaltbarkeit auch bei einem partiellen photochemischen Abbau erhalten.

Seit Beginn dieses Jahres sind Dioden erhältlich, die leistungsstark genug sind, um einen entsprechenden Aufbau ohne eine sehr intensive Xenonhochdrucklampe zu realisieren. Ein Zyklustest könnte so ohne eine durch die intensive Strahlung hervorgerufene Degeneration durchgeführt werden. Dies sollte Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein.

6.5 Zusammenfassung

Die wichtigsten Stabilitäten der PM-Inkjetttinten wurden im Rahmen dieser Arbeit charakterisiert. Dies umfasst die Lichtechtheit, Temperaturstabilität, Wasserechtheit und Zyklizität.

BR selbst verfügt nach DIN 54004 getestet über eine geringe Lichtechtheit (Blauwoll 2). Durch das Aufbringen eines unterhalb von 400 nm absorbierenden Klarlackes als Opferschicht kann die Lichtechtheit unter den Testbedingungen auf Blauwoll 3 erhöht werden. Dies entspricht der Lichtechtheit vieler kommerziell vertriebener Inkjetdruckfarben. Die Testbedingungen führen jedoch durch die thermische Belastung und hohe Lichtintensität zu einer verhältnismäßig schnellen Farbveränderung, die bei einer vergleichbaren Tageslichtdosis so nicht zu erwarten ist. Folglich ist unter Tageslichtbedingungen von einer höheren Lichtechtheit auszugehen. Entsprechende Untersuchungen gegen Tageslicht stehen noch aus, die Schaltbarkeit wird aber auch bei einer photochemischen Degeneration erhalten bleiben, wie die Zyklustestmessungen gezeigt haben.

Die Zyklustestmessungen, die eine quantitative Aussage über die Zyklizität des BRs in Farbschichten erlauben sollten, wurden durch thermisch und durch hohe Lichtintensität bedingte Abbauprozesse überlagert. Zum Test der Zyklizität eines photochromen Farbmittels als Materialeigenschaft gibt es noch keine standardisierten Testverfahren. Der gezeigte Aufbau stellt einen ersten Schritt dar, um ein solches Testverfahren zu verwirklichen. Wie gezeigt werden konnte, beeinflussen verschiedene Parameter die Messung, wie Feuchtigkeit, Temperatur und Lichtintensität. Dies müsste in einem neuen Aufbau beachtet werden, der auch mit neuen, leistungsstarken Leuchtdioden verwirklicht werden könnte, die erst seit kurzem auf dem Markt sind.

Die Eigenschaften von BR bei thermischer Belastung sind als komplex anzusehen. Bei Temperaturen bis 60°C werden irreversible photochemische Reaktionen begünstigt, unter Lichtausschluss finden bis 60°C keine temperaturbedingten Veränderungen statt. Ab 60°C finden in BR reversible Phasenübergänge statt, die durch Feuchtigkeit stark beeinflusst werden, diese verlaufen aber auch in Druckfarben reversibel.

Die PM-Inkjetttinten besitzen durch eine starke Haftung auf dem Papier eine sehr gute Wasserechtheit.

7 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung photochromer Inkjettinten mit der Purpurmembran als Pigment für eine Anwendung im Sicherheits- und Wertedruck als photochrome Farbe.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden erfolgreich photochrome PM-Inkjettinten hergestellt. Erste Voraussetzung für das Design der PM-Inkjettinten war ein geeignetes Tensid zur Formulierung der Tinten zu finden. Die vielfältigen Wechselwirkungen zwischen BR und Tensiden und die damit verbundenen Schwierigkeiten in der Verträglichkeit sind in Kapitel 4 beschrieben. Bei einem Screening, das verschiedene Belastungstests von BR-Tensid-Suspensionen beinhaltete, erwies sich das Fluortensid Zonyl® FSN 100 für eine Formulierung von PM-Inkjettinten als am besten geeignet. Die Verwendbarkeit von Fluortensiden in Spezialanwendungen wie Sicherheitsfarben wird in Kapitel 4.3 diskutiert.

Ausgangspunkt der Entwicklung von PM-Inkjettinten war ein vorliegendes nicht photochromes Rezept. Die Variation einzelner Parameter dieser Tinte und der Zusatz von Photochromiehilfsstoffen erbrachten jedoch keine entscheidenden Fortschritte, da sich der hohe Glycerinanteil als problematisch herausstellte. Erst die Neuformulierung führte zu entscheidenden Verbesserungen in den photochromen Eigenschaften der PM-Inkjettinten.

Die Abhängigkeit der Photochromie von verschiedenen Einflussfaktoren musste bei der Herstellung photochromer PM-Inkjettinten berücksichtigt werden. Durch schrittweise Erweiterung einer neu entwickelten, ebenfalls nicht photochromen PM-Inkjettinte durch die Photochromiehilfsstoffe Arginin, Natriumacetat und Betain konnten die Lebensdauer des M-Zustandes und damit der Photochromie positiv beeinflusst werden. Zusätzlich zeigte sich, dass nach den in Kapitel 5.6 vorgestellten Ergebnissen in Druckschichten mit verminderter Feuchtigkeit die Ionenstärke der Farbschicht bei der Einstellung der Photochromie berücksichtigt werden muss.

Die für eine Anwendung von PM-Inkjettinten wichtigsten Stabilitäten, bzw. Echtheiten, wurden näher untersucht. Dies umfasst die Wasserechtheit, Temperaturstabilität, Lichtechtheit und Zyklizität des photochromen Überganges.

PM-Inkjettinten verfügen allgemein über eine sehr gute Wasserechtheit und lassen sich durch Wasser nur schlecht vom Papier lösen.

Das komplexe Verhalten von BR bei thermischer Belastung wird in Kapitel 6.2 diskutiert. Sind PM-Druckfarben auf Papier aufgebracht, so ist bei der Betrachtung der Temperaturstabilität die Feuchtigkeit der Proben mit einzubeziehen, da Phasenübergänge bei verminderter Feuchtigkeit langsamer ablaufen als in Lösung. Es konnte gezeigt werden, dass der erste Phasenübergang zwischen 60 °C bis 80 °C in PM-Inkjetttinten auf Papier ebenfalls reversibel verläuft.

Bei der Betrachtung der Lichtstabilität müssen die Materialeigenschaften von BR berücksichtigt werden. So zeigt BR bei thermischer Belastung und hoher Strahlungsintensität irreversible photochemische Reaktionen, die unter Tageslichtbedingungen so nicht auftreten. Die Lichtechtheitsprüfung unter Xenonbogenlicht kann deshalb nur begrenzt auf Tageslichtbedingungen übertragen werden. Unter den Testbedingungen verfügt BR über eine Lichtechtheit von Blauwoll 2. Die Abbauprozesse die vor allem von der UV-Strahlung hervorgerufen werden, konnten durch eine UV-absorbierende Beschichtung soweit verringert werden, dass eine Lichtstabilität von Blauwoll 3 erreicht wurde, was einer Verdopplung der Bestrahlungsdosis entspricht. Langzeitexperimente unter Tageslichtbedingungen stehen hingegen noch aus.

Die Zyklustestmessungen wurden durch photochemische Abbauvorgänge überlagert, die auf die hohe Strahlungsintensität im Versuchsaufbau zurückzuführen sind. Aus diesem Grund ist nur eine begrenzte Aussage über die Zyklizität von BR möglich, es konnte aber gezeigt werden, dass auch bei der hohen Anzahl von 45.000 Zyklen der photochemische Abbau hauptsächlich auf die hohe Strahlungsintensität und nicht auf die Schaltung zwischen den Zuständen zurückzuführen ist. Weiterhin nimmt die Schaltbarkeit von BR bei einem photochemischen Abbau nur zu einem geringen Maße ab, so dass die Funktionalität erhalten bleibt.

Diese Arbeit zeigt exemplarisch, dass das in seiner Funktionalität modifizierte biologische Material PM zur Erzeugung synthetisch nicht realisierbarer, optisch variabler Elemente für den Sicherheits- und Wertedruck auch im Inkjetverfahren genutzt werden kann.

Danksagungen

An dieser Stelle Danke ich allen, die mich im Laufe dieser Arbeit unterstützt und damit zu ihrem Gelingen beigetragen haben. Mein Dank gilt:

allen, die mir in schwierigen Zeiten auf unterschiedlichste Weise Kraft gaben.

Herrn Prof. Dr. Norbert Hampp für die Aufnahme in die Arbeitsgruppe, die Bereitstellung des Themas und seine Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. M. Motzkus für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens.

Nina Schromczyk für alles; die praktische Erfahrung mit BR, die Mithilfe bei der Umsetzung so mancher spontanen Idee und die hilfreichen kleinen Pausen.

Sandra Noll, Julia Liese, Daniel Rhinow und Martin Imhof für die gewissenhafte Durchsicht des Manuskriptes.

der feinmechanischen und der elektronischen Werkstatt für die schnelle Erledigung aller Aufträge und die hilfreichen Tipps und Ratschläge.

Frank Noll für das schnelle Beschaffen schwierig zu beschaffender Literatur.

dem Büro, Michael Schranz, Daniel Rhinow, Philipp Behrendt und Andreas Schönafinger, für die bereichernden und belebenden Diskussionen.

Hendrik Reinhardt für die kreativen Diskussionen.

Labview-Gott Hee-Cheol Kim für seine Hilfsbereitschaft.

der gesamten Arbeitsgruppe für die schöne Zeit, die nette Arbeitsatmosphäre und die vielfältige Unterstützung.

Sandra Noll für die Übernahme vieler organisatorischer Aufgaben und das Erstellen der Kurzbedienungsanleitungen, die ein schnelles Einarbeiten in verschiedene Geräte ermöglichten.

Frau Hennen für ihre Hilfe bei Verwaltungsproblemen aller Art.

Meinen Eltern für ihre immerwährende Unterstützung.

8 Literatur

- [1] M. NEEBE
Bakteriorhodopsin als multifunktionales photochromes Farbpigment für die Sicherheitstechnik
Dissertation, Philipps Universität Marburg, **2003**
- [2] T. FISCHER
Photochemische und biochemische Modifikation von Bakteriorhodopsin: Optische Datenspeicherung und Hybridbio-Materialien
Dissertation
Philipps Universität Marburg, **2005**
- [3] D. OESTERHELT, W. STOECKENIUS
Rhodopsin-like Protein from the Purple Membrane of Halobacterium
Nat. New Biol., 233 (1971) 149
- [4] D. OESTERHELT
The Structure and Mechanism of the Family of Retinal Proteins from Halophilic Archaea
Structural Biology, 8 (1998) 489-500.
- [5] D. OESTERHELT
Structure and Function of Halorhodopsin
Israel J. Chem., 35 (1995)
- [6] <http://www.uni-marburg.de/fb15/ag-hampp> 01.03.2009
- [7] I. KOLTOVER, J. RAEDLER, T. SALDITT, K. ROTHSCHILD, C. SAFINYA
Phase Behaviour and Interaction of the Membrane-Protein
Bakteriorhodopsin
Phys. Rev. Lett., 82 (1999) 3184-3187
- [8] R. HENDERSON, J. BALDWIN, T. CESKA, F. ZEMLIN, E. BECKMANN, K. DOWNING
Model for the Structure of Bakteriorhodopsin Based on High-Resolution
Cryo-Microscopy
J. Mol. Biol., 213 (1990) 899
- [9] A. CORCELLI, V. LATTANZIO, G. MASCOLO, P. PAPADIA, F. FANIZZI
Lipid-protein Stochiometries in a Crystalline Biological Membrane: NMR-
Quantitative Analysis of the Lipid Extract of the Purple Membrane
J. Lipid. Res., 43 (2002) 132-140

- [10] X. MO, M. P. KREBS, S. M. YU
Directed Synthesis and Assembly of Nanoparticles Using PM
Small, 2(4) (2006) 526
- [11] D. OESTERHELT, C. BRÄUCHLE, N. HAMPP
Bacteriorhodopsin: a Biological Material for Information Processing
Q. Rev. Biophys., 24 (1991) 425
- [12] Y. SHEN, C. SAFINYA, K. LIANG, A. RUPPERT, K. ROTHSCHILD
Stabilization of the Membrane Protein Bacteriorhodopsin to 140 °C in Two-Dimensional Films
Nature, 366 (1993) 94-106
- [13] N. HAMPP, N. NEEBE, A. Schmuck, P. ROGGENDORF
EP-Patent: 1.767.988 A1 (2005)
- [14] L.-O. ESSEN, R. SIEGERT, W. D. LEHMANN, D. OESTERHELT
Lipid Patches in Membrane Protein Oligomers: Crystal Structure of the Bacteriorhodopsin-Lipid Complex
Proc. Natl. Acad. Sci., 95 (1998) 11673-11678
- [15] J. LANYI
Bacteriorhodopsin
Annu. Rev. Physiol., 66 (2004) 665-688
- [16] U. HAUPTS, J. TITTOR, D. OESTERHELT
Closing in on Bacteriorhodopsin: Progress in Understanding the Molecule
Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct., 28 (1999) 367-99
- [17] W. KÜHLBRANDT
Bacteriorhodopsin – The Movie
Nature, 406 (2000) 569-570
- [18] H. HOUJOU, Y. INOUE, M. SAKURAI
Physical Origin of the Opsin Shift of Bacteriorhodopsin. Comprehensive Analysis Based on Medium Effect Theory of Absorption Spectra
Biochem. Biophys. Acta, 120 (1998) 4459-4470
- [19] J. LANYI, G. VARO
The Photocycles of Bacteriorhodopsin
Isr. J. Chem., 35 (1995) 365-385

- [20] R.-P. BAUMANN
Morphologie von Purpormembran an Grenzflächen
Diplomarbeit, Philipps Universität Marburg, **2008**
- [21] J. LANYI
Proton Transfers in the Bacteriorhodopsin Photocycle
Biochem. Biophys. Acta, 1757 (**2006**) 1012-1018
- [22] J. LANYI
Bacteriorhodopsin
Biochem. Biophys. Acta, 1460 (**2000**) 1-3
- [23] T. HAUß, G. PAPADOPOULOS, S. A. W. VERCLAS, G. BÜLDT, N. A. DENCHER
Neutron Diffraction on Purple Membranes Essential Water Molecules in the
Light-Driven Proton Pump Bacteriorhodopsin
Physica B, 234 (**1997**) 217-219
- [24] T. KOUYAMA, R. A. BOGOMOLNI, W. STOECKENIUS
Photoconversion from the Light-Adapted to the Dark Adapted State of
Bacteriorhodopsin
Biophys. J., 48 (**1985**) 201-208
- [25] J. HOFRIECHTER, E. R. HENRY, R. H. LOZIER
Photocycles of Bacteriorhodopsin in Light and Dark-Adapted Purple
Membrane. Studies by Time-Resolved Absorption Spectroscopy
Biophys. J., 56 (**1989**) 695-706
- [26] M. BRAIMAN, R. MATHIES
Resonance Raman Spectra of Bacteriorhodopsin's Primary Photoproduct:
Evidence for a Distorted 13-cis Retinal Chromophore
Proc. Natl. Acad. Sci., 79 (**1982**) 403-407
- [27] H. LUECKE, B. SCHOBERT, H.-T. RICHTER, J.-P. CARTAILLER, J. K. LANYI
Structural Changes in Bacteriorhodopsin During Ion Transport at 2 Angstrom
Resolution
Science, 286 (**1999**) 255-260
- [28] S. SUBRAMANIAM, R. HENDERSON
Crystallographic Analysis of Protein Conformational Changes in the
Bacteriorhodopsin Photocycle.
Biochim. Biophys. Acta, 1460 (**2000**) 157-165

- [29] D. OESTERHELT, W. STOECKENIUS
Halobacterium halobium and its Fractionation into Red and Purple Membrane.
Methods of Enzymology, 31 (1974) 667-678
- [30] S. KUSHWAHA, M. KATES, W. MARTIN
Charakterization and Composition of the Purple and Red Membrane from *Halobacterium cutirubum*
Can. J. Biochem., 53 (1975) 284-292
- [31] J. MENDEL, D. BUGNER
Particle Generation and Ink Particle Size Effects in Pigmented Inkjet Inks – Part I
J. Nanopart. Res., 1 (1999) 419
- [32] S.F. POND
Inkjet Technology and Product Development Strategies
Torrey Pines Research, California, **2000**
- [33] H.P. LE
Progress and Trends in Ink-Jet Printing Technology
J. Imaging Sci. Tech., 42 (1998) 49-62
- [34] K. H. FISCHBECK
US-Patent: 4.584.590 (1986)
- [35] Präsentation Spectra “Company Overview”
- [36] H. BRÜMMER
Der Tinten(strahl)druck
<http://home.vr-web.de/hans.brueemmer/tintendruck.pdf> vom 05.03.2007
- [37] H. R. KANG
Water-based Inkjet Ink. I. Formulation
J. Imaging. Sci., 35 (1991) 179-188
- [38] M. P. BRETON, F. M. PONTES, K. M. HENSELEIT, B. HELBRECHT, M. D. CROUCHER, R. W. WONG
Patent: US 5.156.675 (1992)
- [39] T. MEZGER
Das Rheologie-Handbuch
Curt R. Vincentz Verlag, Hannover, **2000**

- [40] G. VARO, J. K. LANYI
Distortions in the Photocycle of Bacteriorhodopsin at Moderate Dehydration
Biophys. J., 59 (1991) 313-322
- [41] <http://www.wikipedia.de> vom 22.04.2009
- [42] A. BERGER-SCHUNN
Praktische Farbmessung
Muster-Schmidt, Göttingen, Zürich, **1994**
- [43] <http://www.handprint.com> vom 23.06.2008
- [44] A. HELENIUS, K. SIMONS
Solubilization of Membranes by Detergents
Biochim. Biophys. Acta, 415 (1975) 29-79
- [45] a) K. S. HUANG, H. BAYLEY, H.G. KHORANA
Proc. Natl. Acad. Sci., 77 (1980) 323-327
- b) C. LIND, B. HÖJEBERG, H. G. KHORANA
J. Biol. Chem., 256 (1981) 8298-8305
- c) E. LONDON, H.G. KHORANA
J. Biol. Chem., 257 (1982) 7003-7011
- [46] R. M. GLASER, J. S. JUBB, R. HENDERSON
Structural Comparison of Native and Deoxycholate-Treated Purple Membrane
Biophys. J., 48 (1985) 775-780
- [47] S. J. MILDNER, T. E. THORGEIRSSON, L. J. W. MIERCKE, R. S. STROUD, D. S. KLIGER
Effects of Detergent Environments on the Photocycle of Purified Monomeric Bacteriorhodopsin
Biochemistry, 30 (1991) 1751-1761
- [48] E. LAM, L. PACKER
Nonionic Detergent Effects on Spectroscopic Characteristics and the Photocycle of Bacteriorhodopsin in Purple Membranes
Archives Biochem. Biophys., 221(2) (1983) 557-564
- [49] J.M. GONZALEZ-MANAS, M. D. VIRTO, J.-I. G. GURTUBAY, F. M. GONI
The Interaction of Triton X-100 with Purple Membranes
Eur. J. Biochem., 188 (1990) 673-678

- [50] E. del RIO, J. M. GONZALEZ-MANAS, J.-I. G. GURTUBAY, F. M. GONI
On the Mechanism of Bacteriorhodopsin Solubilization by Surfactants
Archives Biochem. Biophys., 291(2) (1991) 300-306
- [51] E. H. L. TAN, R. R. BIRGE
Correlation Between Surfactant/Micelle Structure and the Stability of
Bacteriorhodopsin in Solution
Biophys. J., 70 (1996) 2385-2395
- [52] N. HAMPP, M. NEEBE
Bacteriorhodopsin-based Multi-level Optical Security Features. *In: Optical
Security and Counterfeit Deterrence Techniques VI (ed. R. L. van Renesse)
SPIE, Bellingham, USA, 6075 (2006) 60750M, 1-9*
- [53] <http://www.applichem.com> vom 03.02.2009
- [54] SRIAMA M. BHAIRI
A Guide to the Properties and Use of Detergents in Biology and
Biochemistry
Calbiochem 2001
- [55] Airproducts, Surynol[®] 400 Series Surfactants
- [56] BASF, <http://www.BASF.com> vom 03.02.2009
- [57] Dupont, <http://www2.dupont.com> vom 03.02.2009
- [58] V. L. SHNYROV, P. L. MATEO
Thermal Transitions in the Purple Membrane from *Halobacterium Halobium*
FEBS Lett., 324(2) (1993) 237-240
- [59] Z. MA, R. ANDERSON
US-Patent: 7.129.284 B2 (2006)
- [60] Schwegemann, <http://www.schwegemannnet.de/> 27.02.2009
- [61] C. SCHROETER-KERMANI, C. SCHULTE, L. TIETJEN
Perfluorierte Verbindungen – Panikmache oder berechnigte Sorge?
UMID 4/2005 7-9
- [62] N. HAMPP
Bacteriorhodopsin as a Photochromic Retinal Protein for Optical Memories
Chem. Rev., 100 (2000) 1755-1776

- [63] N. HAMPP, D. OESTERHELT
Bacteriorhodopsin and its Potential in Technical Applications
Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.
- [64] M. EISENBACH, S. R. CAPLAN
Interaction of Purple Membrane with Solvents: II. Mode of Interaction
Biochim. Biophys. Acta, **554** (1979) 281-292
- [65] M. EISENBACH, S. R. CAPLAN, G. TANNY
Interaction of Purple Membrane with Solvents: I. Applicability of Solubility
Parameter Mapping
Biochim. Biophys. Acta, **554** (1979) 269-280
- [66] S. MITAKU, K. IKUTA, H. ITOH, R. KATAOKA, M. NAKA, M. YAMADA, M. SUWA
Denaturation of Bacteriorhodopsin by Organic Solvents
Biophys. Chem., **30** (1988) 69-79
- [67] E. GRULKE
Solubility Parameter Values
Polymer Handbook, Hrsg. J. BRANDRUP, E. IMMERGUT
Wiley Interscience, **3** (1989) VII519 – VII 559
- [68] <http://www.dimatix.com>
Spectra® Nova PH 256/80 AAA
Produktdatenblatt
- [69] Large Format, T. GERHARDT
- [70] D. M. ZABIAK
US-Patent: 3.705.043 (1972)
- [71] R. MEYER, K. HOFFMANN, K.-H. FREYTAG, H. VETTER
DE-Patent: 2.258.835 (1972)
- [72] J. G. BEARSS, K. A. NORTON
US-Patent: 4.791.165 (1988)
- [73] A. SEITZ
Photochrome Zubereitungen aus Bacteriorhodopsin für optische
Aufzeichnung und die Sicherheitstechnik.
Philipps Universität Marburg, **1999**
- [74] D.J. PALMER
US-Patent: 4.685.968 (1987)

- [75] J. S. STAEDLER
DE-Patent: 299.06.521 U1 (**1999**)
- [76] E. KUCKERT
Tinten für Ink-Jet Verfahren
Präsentation, Bayer AG, **1999**
- [77] Y. YAMASHITA, H. INOUE, K. HASHIMOTO
US-Patent: 2002/0002930 (**2002**)
- [78] H.-J. BUTT
Measuring Local Surface Charge Densities in Electrolyte Solutions with a Scanning Force Microscope
Biophys. J., 63 (**1992**) 578-582
- [79] M. SANIO
Optische Methoden der Informationsspeicherung unter Verwendung des biologischen Photochroms Bakteriorhodopsin.
Dissertation, Philipps-Universität Marburg, **2000**
- [80] Y. CAO, G. VARO, M. CHANG, B. NI, R. NEEDLEMAN, J. K. LANYI
Water is Required for Proton Transfer from Aspartate-96 to the Bakteriorhodopsin Schiff Base.
Biochemistry, 30 (**1991**) 10972-10979
- [81] R. KORENSTEIN, B. HESS
Hydration Effects on the Photocycle of Bakteriorhodopsin in Thin Layers of Purple Membran
Nature, 270 (**1977**) 184-186
- [82] I. KOVACS, G. VARO
Charge Motion in Vacuum-dried Bakteriorhodopsin
J. Photochem. Photobiol. B Biol., 1 (**1988**) 469-474
- [83] G. N. PAPADOPOULOS, G. DENCHER, G. ZACCAI, G. BÜLDT
Water Molecules and Exchangeable Hydrogen Ions at the Active Center of Bakteriorhodopsin Localized by Neutron Diffraction. Elements of the Proton Pathway
J. Mol. Biol., 214 (**1990**) 15-19

- [84] Y. A. LAZAREV, E. L. TERPUGOV
Effect of Water on the Structure of Bacteriorhodopsin and Photochemical Processes in Purple Membrans
Biochem. et Biophys. Acta, 590 (1980) 324-338
- [85] Produktbroschüre BASF
PVP and more...
www.luvitev.com 30.06.2009
- [86] G. I. GROMA, R. A. BOGOMOLNI, W. STOECKENIUS
The Photocycle of Bacteriorhodopsin at high pH and Ionic Strength
I. Effects of pH and Buffer on the Absorption Kinetics
Biochim. et Biophys. Acta, 1319 (1997) 59-68
- [87] M. RENARD, M. DELMELLE
pH and Salt Effects on the Slow Intermediates of the Bacteriorhodopsin Photocycle
Eur. Biophys. J., 12 (1985) 223-228
- [88] S. P. BALASHOV, R. GOVINDJEE, T. G. EBREY
Biophys. J., 60 (1991) 475-490
- [89] Z. DANCSHÁZY, Z. TOKAJI, A. DÉR
Bleaching of Bacteriorhodopsin by Continuous Light
FEBS Letters, 450 (1999) 154-157
- [90] Y. YOKOYAMA, M. SONOYAMA, S. MITAKU
Irreversible Photobleaching of Bacteriorhodopsin in a High-Temperature Intermediate State
J. Biochem., 131 (2002) 785-790
- [91] Y. YOKOYAMA, M. SONOYAMA, S. MITAKU
Inhomogeneous Stability of Bacteriorhodopsin in Purple Membran Against Photobleaching at High Temperatures
Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 54 (2004) 442-454
- [92] C. D. HEYES, M. A. EL-SAYED
Thermal Properties of Bacteriorhodopsin
J. Phys. Chem., 107 (2003) 12045-12053

- [93] C. G. BROUILLETTE, D. D. MUCCIO, T. K. FINNEY
pH Dependence of Bacteriorhodopsin Thermal Unfolding
Biochemistry, 26 (1987) 7431-7438
- [94] G. ZACCAI, D. J. GILMORE
Areas of Hydration in the Purple Membrane of *Halobacterium salinarum*: a
Neutron Diffraction Study
J. Mol. Biol., 132 (1979) 181-191
- [95] G. VARO, L. EISENSTEIN
Infrared Studies of Water Induced Conformational Changes in
Bacteriorhodopsin
Eur. J. Biochem., 14 (1987) 163-168
- [96] www.wikipedia.com vom 03.05.2009
- [97] T. M. SCHNITZLER
Lichtechtheit was ist das?
Large Format 54 Forschungsgesellschaft Druck e.V.
- [98] Broschüre: SUNTEST Xenon-Prüfgeräte; ATLAS Material Testing Solutions
- [99] Operating manual SUNTEST XLS / XLS+; ATLAS Material Testing Solutions
- [100] A.-C. R. LIN, H. S. TOM
Patent: US 5.948.150 (1999)
- [101] U. KASTEN
Organic Light Stabilizers for Industrial Coatings
Präsentation, Ciba, Sachtleben
- [102] J.E.A. OTTERSTEDT
J. Phys. Chem., 58 (1973) 5716
- [103] J. E. HAFEMEISTER, J. T. KOFRON, M. B. MASTHAY
UV-induced Photodegradation of Bacteriorhodopsin
Photochem. Photobiol. Abstr. Supplement, 57 (1993) 61
- [104] Y. YOKOYAMA, M. SONOYAMA, T. Nakano, S. MITAKU
Structural Change of Bacteriorhodopsin in the Purple Membran above pH 10
Decreases Heterogeneity of the Irreversible Photobleaching Components
J. Biochem., 142 (2007) 325-333

- [105] H. BÖHNKE, E. HESS
Lichtschutzmöglichkeiten in Lacken: Möglichkeiten und Grenzen
farbe + lack, 95(10) (1989) 715-719
- [106] Y. RAO, R. J. KRESS, L. P. DE MEJO, S. D. NESBITT
DE-Patent: 60310322 T2 (2007)
- [107] H. G. HELLER
Organic Fatigue-Resistant Photochromic Imaging Materials
IEEE Proc., 130 (1983) 209-211
- [108] M. IRIE
Diarylethenes for Memories and Switches
Chem. Rev., 100 (2000) 1685-1716
- [109] N. HAMPP, A. SILBER
Functional Dyes from Nature: Potentials for Technical Applications.
Pure & Appl. Chem., 68 (1996) 1361-1366.