

Herstellung unilamellarer Vesikel durch Phasentransferprozesse

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. rer. nat.

der Fakultät Chemie

der Technischen Universität Dortmund

vorgelegt von

Diplom-Chemikerin Evelin Aurelia Schmitte

Dortmund 2011



*No bird soars too high,
if he soars with his own wings.*

William Blake

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit zwischen Oktober 2007 und Oktober 2011 am Lehrstuhl für Physikalische Chemie II der Technischen Universität Dortmund.

1. Gutachter: Prof. Dr. Heinz Rehage
2. Gutachter: Prof. Dr. Roland Winter

Tag der mündlichen Prüfung: 02.11.2011

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Rehage für die interessante Themenstellung, die wertvollen Ratschläge, seine Unterstützung, Begeisterungsfähigkeit und die wertvollen Anregungen, die die Durchführung dieser Dissertation ermöglichten.

Herrn Prof. Dr. R. Winter danke ich vielmals für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Herrn Dr. J. Krägel (MPI Golm, Potsdam), Herrn Dipl. Ing. S. Holzapfel (ETH Zürich) und Frau Dipl. Chem. K. Bressel (TU Berlin) danke ich für die gute Zusammenarbeit im DFG Projekt SPP 1273 „Kolloidverfahrenstechnik“.

Frau M. Meuris (TU Dortmund) danke ich für die Betreuung der TEM-Messungen.

Herrn MSc. C. Denter (TU Dortmund), Herrn BSc. S. Limbacher, Frau S. Demand (TU Dortmund), Frau A.-K. Wiegand (TU Dortmund), Herrn MSc. P. Wagner, Herrn MSc. C. Strötges, Herrn MSc. M. Kibler und Frau BSc. A. Drathen gilt mein Dank für die gemeinsame Bearbeitung einiger Aspekte dieser Arbeit.

Für die Unterstützung in der Zeit während der Dissertation und die konstruktive Kritik bei der Durchsicht dieser Dissertation bin ich Frau Dipl. Chem. E. Hilz (TU Wageningen), Frau Dipl. Chem. I. Koleva (TU Dortmund) und Herrn Dipl. Chem. R. Fuchs sehr dankbar.

Besonders herzlich bedanken möchte ich mich bei meinem Ehemann, dessen Hilfe und Unterstützung ich nicht in Worte zu fassen mag.

Ferner möchte ich mich für die anregenden Diskussionen und die gute Zusammenarbeit bei allen Angehörigen des Arbeitskreises bedanken.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	12
2	Grundlagen	14
2.1	Amphiphile Moleküle	14
2.2	Ober- und Grenzflächenspannung	15
2.3	Selbstaggregation amphiphiler Moleküle	18
2.4	Vesikel	20
2.4.1	Einteilung der Vesikel.....	21
2.4.2	Gestalt von Vesikeln	22
2.4.3	Dynamik und Kräfte in Doppelschichten.....	23
2.4.4	Bedeutung von Vesikeln als Funktion der Zelle.....	25
2.4.5	Herstellung von Vesikeln.....	27
2.4.6	Wirkstoffeinbau in Vesikel	31
2.4.7	Anwendungsbeispiele vesikulärer Systeme	32
2.5	Emulsionen	33
2.5.1	Mikroemulsionen	34
2.5.2	Elektrospray	35
2.5.3	Koaleszenz von Tropfen miteinander und an Grenzflächen	37
2.5.4	Koaleszenz und Sedimentation von Emulsionstropfen.....	41
2.6	Rheologie	43
2.6.1	Das Zwei-Platten-Modell.....	43
2.6.2	Ideales Verhalten nach NEWTON und HOOKE.....	44
2.6.3	Viskoelastisches Verhalten von Flüssigkeiten nach MAXWELL.....	45
2.6.4	Viskoelastisches Verhalten von Festkörpern nach KELVIN und VOIGT.	46
2.6.5	Speicher- und Verlustmodul	47
3	Methoden	50
3.1	Charakterisierung von Grenzflächenfilmen	50
3.1.1	Pendant Drop	50
3.1.2	Spinning Drop.....	51
3.1.3	Ringmethode nach DE NOÛY und Vertikalplattenmethode nach WILHELMY ...	53
3.1.4	Torsionspendel	55
3.1.5	π/A -Isothermen und Oberflächenpotential	56
3.2	Bestimmung von Partikelgrößen	58
3.2.1	Statische Lichtstreuung	58
3.2.2	Dynamische Lichtstreuung	62
3.2.3	Zeta-Potential	65

3.3 Mikroskopische Methoden	67
3.3.1 Hellfeld-Mikroskopie.....	67
3.3.2 Phasenkontrast-Mikroskopie.....	69
3.3.3 Differentieller Interferenzkontrast	70
3.3.4 Long-Distance-Mikroskop	73
3.3.5 Transmission-Elektronen-Mikroskopie	73
3.4 Spektroskopische Methoden	75
3.4.1 Fluoreszenz	75
4 Ergebnisse	77
4.1 Charakterisierung der Grenzflächenfilme	77
4.1.1 Adsorptionskinetik.....	77
4.1.2 Scherrheologische Eigenschaften	82
4.2 Methoden der Vesikelherstellung	83
4.2.1 Riesenvesikel durch Zutropfen	83
4.2.2 Zentrifugation	90
4.2.3 Dichtevarianz	106
4.2.4 Strömungsapparaturen	113
4.3 Einbaueffizienz	124
4.3.1 System: Carboxyfluorescein	124
4.3.2 Auswertung und Vergleich der Herstellungsmethoden	125
4.4 Theoretisches Modell zur Vesikelgröße	132
4.4.1 Vergleich der theoretischen und experimentellen Daten	133
4.1.2 Einfluss von Koaleszenz-/ Sedimentationsgeschwindigkeit.....	135
4.5 Phasentransferprozesse an Wasser/ Luft-Grenzflächen	140
5 Zusammenfassung	144
6 English Summary	146
7 Ausblick	148
8 Materialien und Methoden	150
8.1 Chemikalien.....	150
8.2 Grenzflächencharakterisierung	150
8.3 Vesikelherstellung	152
8.4 Untersuchungen von Emulsionen.....	156
8.5 Experimentelle und analytische Methoden.....	157
9 Literaturverzeichnis	160

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungen chemischer Substanzen

AOT	Bis(2-ethylhexyl)sulfosuccinat Natriumsalt
ATP	Adenosintriphosphat
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
DCP	Dihexadecylphosphat
DLPC	Dilauroylphosphatidylcholin
DMPC	Dimyristoylphosphatidylcholin
DPPC	Dipalmitoylphosphatidylcholin
DTABr	Decyltrimethylammoniumbromid
eGFP	Enhanced Green Fluorescent Protein
GFP	Green Fluorescent Protein
Isooctan	2,2,4-Trimethylpentan
NaCl	Natriumchlorid
NaOH	Natronlauge
PEG	Polyethylenglycol
SAIB	Saccharoseacetatisobutyrat
SDS	Natriumdodecylsulfat
Span® 20	Sorbitanmonolaurat
Span® 80	Sorbitanmonooleat
TBS	Tris gepufferte NaCl-Lösung
TexNa	Natriumlaurylsulfat
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
Triton® X-100	Polyethylenglycol tert-octylphenylether
TTABr	Tetradecyltrimethylammoniumbromid
Tween® 20	Polyethylenglycol Sorbitanmonolaurat
Tween® 80	Polyethylenglycol Sorbitanmonooleat

Begriffliche Abkürzungen

CCD	Charge-Coupled-Device
CMC	Kritische Mizellbildungskonzentration
Cryo-TEM	Gefrier-Transmissions-Elektronenmikroskopie

DIC	Differenteller Interferenzkontrast
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DNA	Desoxyribonukleinsäure
GUV	Riesige unilamellare Vesikel
HLB	Hydrophilic-Lipophilic-Balance
LD ₅₀	Letale Dosis
LUV	Große unilamellare Vesikel
ME	Mikroemulsion
NBF	NEWTON Black Film
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
O	Öl
RT	Raumtemperatur
SLS	Statische Lichtstreuung
SUV	Kleine unilamellare Vesikel
TEM	Transmissions-Elektronenmikroskopie
W	Wasser

Abkürzungen numerischer Faktoren und Konstanten

Lateinische Buchstaben

A	Ober-/ Fläche Basislinie
a	Fläche der hydrophilen Kopfgruppe Abklingzeit
b	Willkürliche Konstante
c	Konzentration Offset-Wert Lichtgeschwindigkeit
D	Diffusionskoeffizient
d	Durchmesser
E _{bend}	Biegesteifigkeitsenergie
E _{Gibbs}	Gibbs-Energie
E _{grav}	Gravitationsenergie

E_{kin}	Kinetische Energie
E_{pot}	Potentielle Energie
E_{R}	Elastizität des Torsionsdrahtes
E_{S}	Dehnelastizität Beitrag der Grenzflächenspannung zur Energie des Tropfens
F	Kraft
F_{R}	Reibungskraft der reinen Lösungsmitteloberfläche
$f(\text{ka})$	HENRY-Funktion
f_{V}	Verlustfaktor
G	Elastizität
G_{S}	Scherelastizität
g	Gravitationskonstante
H_{S}	Apparatekonstante
h	Filmdicke Höhe
I	Intensität
I_{R}	Trägheitsmoment
K	Kraft
K_{d}	Universelle Konstante
K_{SV}	STERN-VOLMER-Konstante
k_{B}	Boltzmann-Konstante
k_{c}	Biegesteifigkeitsmodul der zylindrischen Krümmung
\bar{k}_{c}	Biegesteifigkeitsmodul der Gauß'schen Krümmung
k_{s}	Dehnungsmodul
L	Längsachse des Tropfens Länge
l_{c}	Kritische Länge der hydrophoben Ketten
M	Molmasse Molekulargewicht
N	Teilchenkonzentration
N_{A}	Avogadro-Konstante

n	Anzahl der Kohlenstoffatome Flächennormale Moleküldichte Brechungsindex
$P(q)$	Streufaktor
Pe	Peclet-Zahl
ΔP	Druck im elektrischen Feld
Δp	Druckunterschied
p	Packungsparameter
Q	Flussrate
R	Allgemeine Gaskonstante Längsachse des Tropfens
R_G	Gyrationsradius
R_θ	RAYLEIGH-Verhältnis
r	Radius Detektionsabstand
$S(q)$	Strukturfaktor
S_K	Spreitungskoeffizient
S_P	Verteilungsdruck der Tenside
T	Temperatur
t	Zeit
t_0	Phasenverzögerung
U	Umfang
U_e	Elektrische Mobilität
V	Volumen
ΔV	Potentialänderung
v	Geschwindigkeit

Griechische Buchstaben

α	Ionischer Wechselwirkungsparameter Kontaktwinkel Polarisierbarkeit
γ	Grenzflächenspannung Amplitude Öffnungswinkel des Objektivs
$\dot{\gamma}$	Scherrate
δ	Phasenverschiebung
ϵ	Dielektrizitätszahl
ζ	Zeta-Potential
η	Viskosität
η_s	Scherviskosität
θ	Winkel
λ	Wellenlänge
μ	Normalkomponente des Dipolmomentes pro Molekül
ρ	Teilchen-/ Dichte
π	Oberflächen-/ Druck
σ	Oberflächenspannung
τ	Schubspannung Zeitraum
ν	Volumen der hydrophoben Ketten Lichtfrequenz
φ	Volumenanteil
ω	Kreisfrequenz Schwingungsfrequenz

1 Einleitung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Herstellung unilamellarer Vesikel durch Phasentransferprozesse und der Abhängigkeit der Vesikelgröße und des Wirkstoffeinbaus vom gewählten Krafteintrag für den Phasentransfer.

Vesikel sind amphiphile Doppelschichten, die wäßrige Kompartimente umschließen. In vivo sind sie wie Zellmembranen durch Phospholipide aufgebaut^[1] und dienen als Transportbehälter zwischen den Zellen. Sie können auch in vitro aus einfachen Tensiden aufgebaut werden^[2,3].

Aufgrund ihres Zellmembran imitierenden Aufbaus dienen künstlich hergestellte Vesikel oft als Modelle für Zellen^[4,5]. Mit riesigen, unilamellaren Vesikeln im µm-Bereich kann sehr leicht mikroskopisch das Verhalten von Zellen während der Endo- und Exozytose (dem Abschnüren und Aufnehmen von Vesikel in Zellen) simuliert werden.

In Vesikeln können weiterhin sowohl hydrophile als auch hydrophobe Substanzen eingebaut werden. Große und kleine, uni- und multilamellare Vesikel werden daher zunehmend als Wirkstoffträger in der Medizin eingesetzt^[6-8]. Sie weisen oftmals eine bessere Verträglichkeit und einen besseren Schutz des Wirkstoffs vor körpereigenen Abbauprozessen durch z.B. Enzyme oder dem Immunsystem auf. Aufgrund der langsameren Abgabe des Wirkstoffes durch die permeable Membranschicht ist es möglich auch Dosen an Patienten zu verabreichen, die anderweitig toxisch wirken können. Die langsame Freisetzung bewirkt weiterhin einen längeren Wirkungsgrad der Medikamente.

Ein weiterer Bereich zur Anwendung von Vesikeln findet sich als Bioreaktoren^[9]. Da das wäßrige Kompartiment im Inneren der Vesikel vom äußeren Medium durch eine Membran geschützt ist, können Reaktionen im inneren der Vesikel unabhängig von äußeren Einflüssen durchgeführt werden. Die Membran weist ein permeables Verhalten auf, was es ermöglicht Endprodukte aus dem Inneren auszuschleusen und so ein mögliches Reaktionsgleichgewicht durch Kompartimentierung zu Gunsten der Produkte zu verschieben.

Viele Eigenschaften von Vesikel hängen von ihrer Größe, ihrer Lamellarität und ihren Wirkstoffeinbau ab. Bisher etablierte Methoden wie die Quellmethode^[10] und die Elektropräparation^[11] weisen nur eine begrenzte Variation der gewünschten Eigenschaften auf und weichen im Rahmen der Forschung immer mehr der Herstellung von Vesikeln an W/O (Wasser/ Öl)-Grenzflächen^[12-14].

1 Einleitung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Vesikel durch Phasentransferprozesse an W/O-Grenzflächen hergestellt und im Hinblick auf ihre Größe und ihren Wirkstoffeinbau untersucht. Hierfür wurde eine Wasserphase mit einer Ölphase überschichtet. In einer der beiden Phasen wurde ein Tensid gelöst, welches an die Grenzfläche adsorbiert. In einem zweiten Schritt wurde zur Ölphase eine W/O-Emulsion gegeben, deren Wassertropfen im abschließenden Schritt durch Anlegen einer äußeren Kraft und unter Ausbildung von Vesikeln in die untere Wasserphase transportiert wurden. Der Phasentransfer erfolgte durch Zentrifugation, Dichtedifferenz und im elektrischen Feld. Die Eigenschaften der Tensidfilme an den Grenzflächen sowie die erhaltenen Vesikel wurden mithilfe von kolloidchemischen Methoden charakterisiert.

2 Grundlagen

2.1 Amphiphile Moleküle

Eine wichtige Molekülgruppe, die an Grenzflächen adsorbiert, sind amphiphile Substanzen, auch Tenside genannt. Sie bestehen aus einem hydrophoben Teil, meist einer langen Alkylkette und einem hydrophilen Kopf, der sowohl ionisch als auch nicht-ionisch sein kann. Diese Moleküle werden auch Tenside genannt. Ihr Aufbau kann stark variieren. Die Kopfgruppe kann aus einer Phosphatgruppe, einer Aminogruppe, einer Carboxylgruppe oder aus einfachen Hydroxylgruppen aufgebaut sein. Die Alkylkette kann unterschiedlich stark verzweigt und auch mehrfach vorhanden sein. Spezielle Formen von Tensiden bilden die Gruppen der Bolaform- und Geminitenside, die jeweils zwei Alkylketten und 2 Kopfgruppen aufweisen. Beispiele einiger Tenside sind in Abb. 2.1 dargestellt.

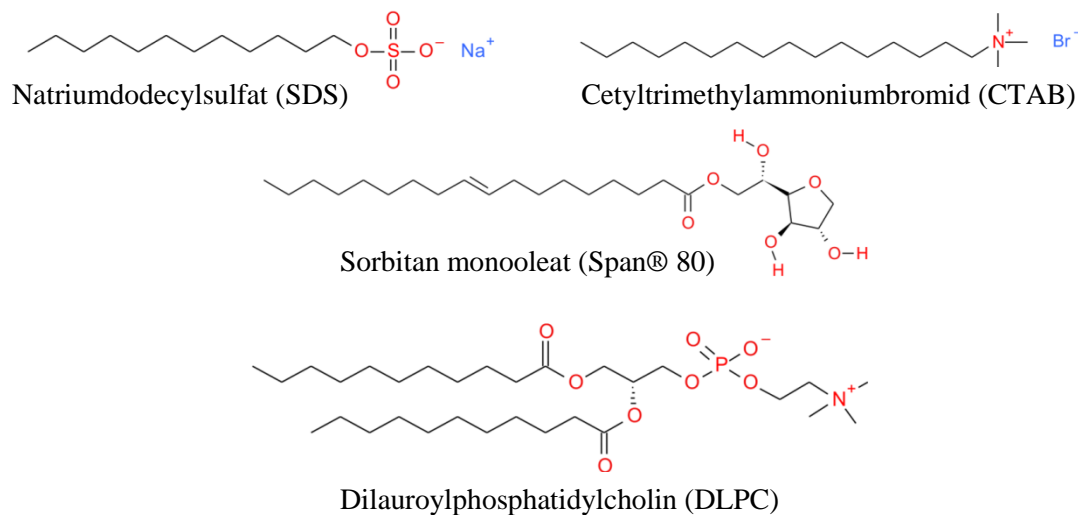


Abb. 2.1 Strukturformeln einiger ausgewählter Tenside (schwarz: hydrophober Bereich, rot: hydrophiler Bereich, blau: Gegenionen).

Aufgrund ihrer amphiphilen Eigenschaften und der dadurch auftretenden Wechselwirkungen mit umgebenden Lösungsmittelmolekülen (z.B. Wasser) diffundieren Tenside an Ober- und Grenzflächen (z.B. Luft-Wasser oder Öl-Wasser) und lagern sich dort als Filme an. Sie ermöglichen ein breites Spektrum an Grenzflächenreaktionen (z.B. eine Membranbildung) und finden häufig Einsatz bei Oberflächenbeschichtungen, Kapselerzeugung für die Lebensmittelindustrie, in Haushaltsmitteln oder in der pharmazeutischen Industrie^[15]. Sie dienen dabei als Stabilisatoren und erleichtern die Bildung von Emulsionen.

2.2 Ober- und Grenzflächenspannung

Aufgrund ihres amphiphilen Charakters diffundieren Tenside an Ober- und Grenzflächen. Die hydrophile Kopfgruppe richtet sich dabei zur wässrigen Phase aus, der hydrophobe Schwanz zur Luft oder dem Lösungsmittel. Diese Anlagerung an die Ober- oder Grenzflächen kann bei Zunahme der Tensidkonzentration gleichmäßig erfolgen und eine homogene Schicht oder Cluster-/ Aggregatstrukturen ausbilden^[15,16].

Wächst die Konzentration weiter an, erfolgt nach der kompletten Belegung der Ober- oder Grenzfläche eine Ausbildung von Mizellen oder anderen Aggregaten innerhalb der Phase. Innerhalb dieser Aggregate lagern sich die hydrophoben Bereiche mehrerer Tenside in einem Kernbereich zusammen, während die hydrophilen Kopfgruppen dem wässrigen Medium zugewandt sind (in hydrophoben Lösungsmitteln tritt ein umgekehrter Effekt auf). Dies ist thermodynamisch und energetisch stark begünstigt. Die Mindestkonzentration zur Ausbildung solcher Aggregate wird kritische Mizellbildungskonzentration genannt (CMC). Um sie zu ermitteln werden z.B. konzentrationsabhängige Werte der Grenzflächenspannung (bzw. Oberflächenspannungen für Systeme Flüssigkeit/ Luft) benötigt. Die Grenzflächenspannung γ bzw. Oberflächenspannung σ ist definiert als die reversible Arbeit, die benötigt wird um die Grenzfläche isotherm und isobar um eine definierte Fläche A zu vergrößern (Einheit: N/m)^[15,17] (Gleichung (2.1)).

$$w_{\sigma} = \int_0^A \sigma dA = \sigma A \quad (2.1)$$

Die Grenzflächenspannung bewirkt eine Verkleinerung der Grenzfläche und sinkt mit zunehmender Tensidkonzentration bzw. zunehmender Belegung der Grenzfläche mit Tensiden. Bei vollständiger Belegung und mit Beginn der Ausbildung von Aggregaten erreicht sie ihren Mindestwert. Diese Tensidkonzentration entspricht der CMC (kritische Mizellbildungskonzentration). Dieser Wert hängt u.a. von der hydrophoben Kettenlänge, der Kopfgruppegröße, der Salzkonzentration und der Temperatur ab^[18]. Sie kann unter Verwendung verschiedener Methoden (z.B. Ober-/ Grenzflächenspannung, Lichtstreuung, Leitfähigkeit) bei der konzentrationsabhängige Messungen durchgeführt werden, bestimmt werden. Einige so erhaltene Messkurven sind in Abb. 2.2 dargestellt.

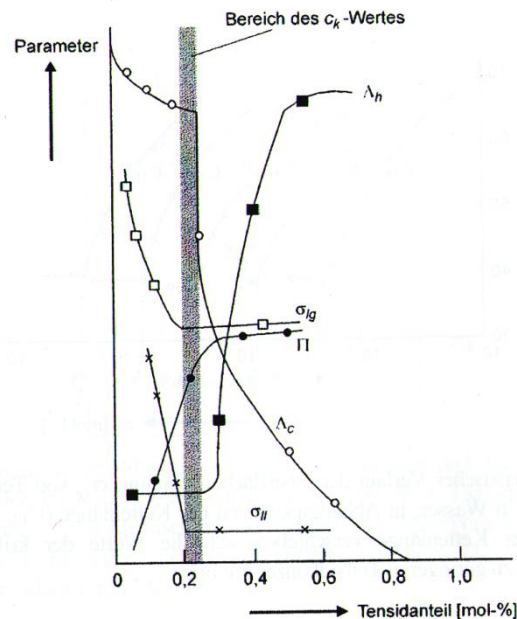


Abb. 2.2 Verlauf physikalisch-chemischer Parameter in Abhängigkeit der Tensidkonzentration im Bereich der kritischen Mizellbildungskonzentration c_k : Λ_c Äquivalentleitfähigkeit, Λ_h Hochfrequenzleitfähigkeit, σ_{ig} Oberflächenspannung, σ_{II} Grenzflächenspannung, Π osmotischer Druck [15].

Wird die Grenzflächenspannung in Abhängigkeit der Zeit bestimmt, also eine Adsorptionskinetik gemessen, kann nach Gleichung (2.2) der Diffusionskoeffizient der Tenside bestimmt werden. Dies gilt nur im Bereich kleiner Abweichungen von der Ober-/Grenzflächenspannung des Systems ohne Tensid^[19,20]:

$$\pi = R\Gamma = 2TRc_0 \left(\frac{Dt}{\pi} \right)^{1/2} \quad (2.2)$$

mit $\pi = \gamma_0 - \gamma$, R allgemeine Gaskonstante, T Temperatur, c_0 Konzentration, D Diffusionskoeffizient, t Zeit.

Auch schwerlösliche Tenside bilden Grenzflächenfilme aus. Werden schwerlösliche Tenside in Kontakt mit z.B. Wasser gebracht, spreiten diese unter Ausbildung eines Grenzflächenfilms auf der Oberfläche. Aufgrund ihres amphiphilen Charakters richten sie die Paraffinketten dabei der Luft entgegen, während die polare Kopfgruppen in Kontakt mit dem Wasser bleiben. Wird bei der Spreitung des schwerlöslichen Tensids eine ausreichend geringe Konzentration eingesetzt, so dass Wechselwirkungen der Tenside untereinander ausgeschlossen werden können, bildet sich ein monomolekularer Film, ein sogenannter LANGMUIR-Film aus^[21-25]. Dieser befindet sich nicht im thermodynamischen

2 Grundlagen

Gleichgewicht, da die Moleküle immer noch bestrebt sein können, in die Wasserphase zu diffundieren oder Multischichten auszubilden. Wichtig für die Spreitung ist der Spreitungskoeffizient, der angibt ob das Tensid aufspreitet oder nicht. Er ist definiert als

$$S_K = \sigma_{l,g} - (\sigma_{Film,g} + \sigma_{Film,l}) \quad (2.3)$$

mit $\sigma_{l,g}$ Grenzflächenspannung zwischen Gas- und Flüssigphase, $\sigma_{Film,l}$ Grenzflächenspannung zwischen Film- und Flüssigphase sowie $\sigma_{Film,g}$ Grenzflächenspannung zwischen Film- und Gasphase.

Zur Charakterisierung dieser LANGMUIR-Filme wird der Oberflächendruck π_0 gemessen. Er ist definiert als

$$\pi_0 = \sigma_0 - \sigma \quad (2.4)$$

mit σ_0 der Oberflächenspannung der sauberen Wasseroberfläche und σ der Oberflächenspannung mit einer Monolage des Tensids.

Wird die Fläche, die den gespreiteten Molekülen zur Verfügung steht, komprimiert, können Phasenumwandlungen beobachtet werden. Für eine Messung des Oberflächendruckes gegen die Fläche, ergibt sich eine π/A -Isotherme, die in der folgenden Abb. 2.3 dargestellt ist.

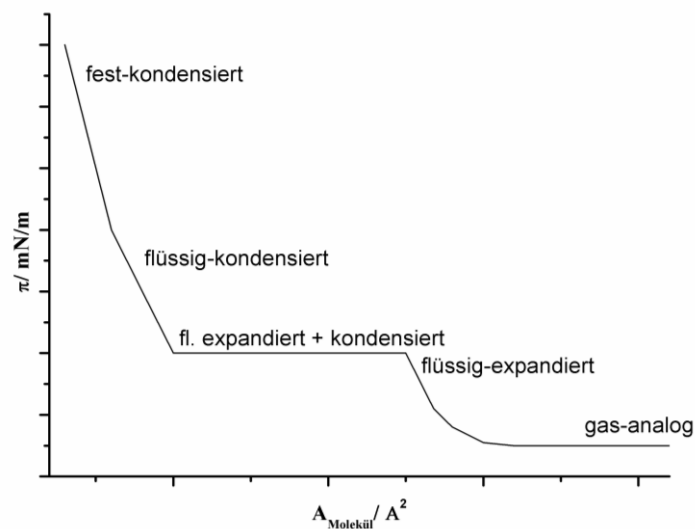


Abb. 2.3 Darstellung einer π/A -Isotherme mit unterschiedlichen Phasen.

2 Grundlagen

Folgende Phasen können auftreten^[26]:

gas-analog: Die Moleküle befinden sich in einem gasähnlichen Zustand und wechselwirken nicht miteinander. Sie haben eine große Fläche zur Verfügung auf der sie zufällig verteilt vorliegen.

flüssig-expandiert: In dieser Phase fangen die hydrophoben Ketten der Tenside an sich aufzurichten. Sie befinden sich in einem ähnlichen Zustand wie flüssige Kohlenwasserstoffketten.

flüssig-kondensiert: Bei weiterer Komprimierung des Films richten sich die Ketten nahezu senkrecht zur Flüssigkeitsoberfläche auf. Die Phasenumwandlung von flüssig-expandiert zu flüssig-kondensiert ist durch einen gleichbleibenden Oberflächendruck in der Isotherme gekennzeichnet.

fest-kondensiert: In dieser Phase nehmen die Moleküle eine dichteste Packung ein und weisen festkörperähnliche Eigenschaften auf.

Bei weiterer Kompression des Films tritt ein Filmkollaps ein, der zur Ausbildung von Multischichten führt. Durch Extrapolation der Isotherme in der fest-kondensierten Phasen auf einen Oberflächendruck von 0, kann der Flächenbedarf eines Moleküls bestimmt werden. Die Phasen und Phasenumwandlungen sind im Wesentlichen abhängig vom Tensid, der Temperatur, dem pH-Wert und ionischen Zusätzen im Lösungsmittel^[27].

2.3 Selbstaggregation amphiphiler Moleküle

Neben Mizellen mit sphärischer Struktur können bei entsprechend hohen Konzentrationen auch Mizellen in Stäbchen- oder Scheibchenformen entstehen^[28-32]. Weiter sind die Ausbildung von Vesikeln oder lamellaren Phasen möglich (Abb. 2.4). Diese Phasen können auch nebeneinander in einem sog. Mehrphasengebiet vorliegen^[33,34].

2 Grundlagen

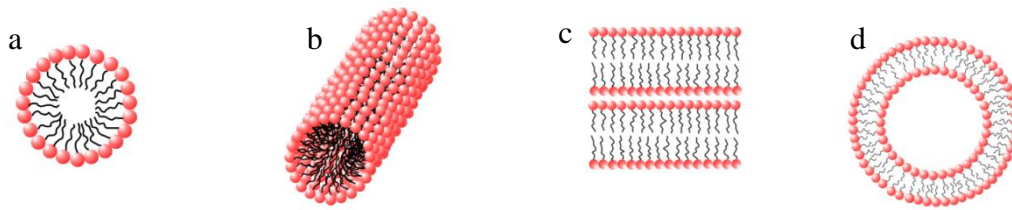


Abb. 2.4 Mögliche Strukturen der Selbstaggregation von Tensiden. a) Mizelle, b) Stäbchenmizelle, c) Doppelschichten, d) Vesikel.

Zur Ausbildung dieser Strukturen tragen im Wesentlichen vier Kräfte bei, die sowohl abstoßend als auch anziehend wirken können: Van-der-Waals Kräfte, elektrostatische Wechselwirkungen, Hydratisierung und sterische Kräfte^[35-37]. Weitere Parameter, die die Strukturbildung der Tenside beeinflussen oder für eine Umwandlung sorgen sind der pH-Wert und die Elektrolytkonzentration, die Temperatur, der Oberflächendruck sowie angelegte Scherströmungen^[38-43].

Ein vereinfachtes Modell zur Beschreibung der Selbstaggregation amphiphiler Moleküle ist ihre geometrische Struktur. Dabei werden das effektive Volumen der hydrophoben Kohlenwasserstoffketten v , die kritische Länge der hydrophoben Kohlenwasserstoffketten l_c sowie die Fläche der hydrophilen Kopfgruppe a berücksichtigt und zu einem Packungsparameter p zusammengefasst (Gleichung (2.5), Abb. 2.5)

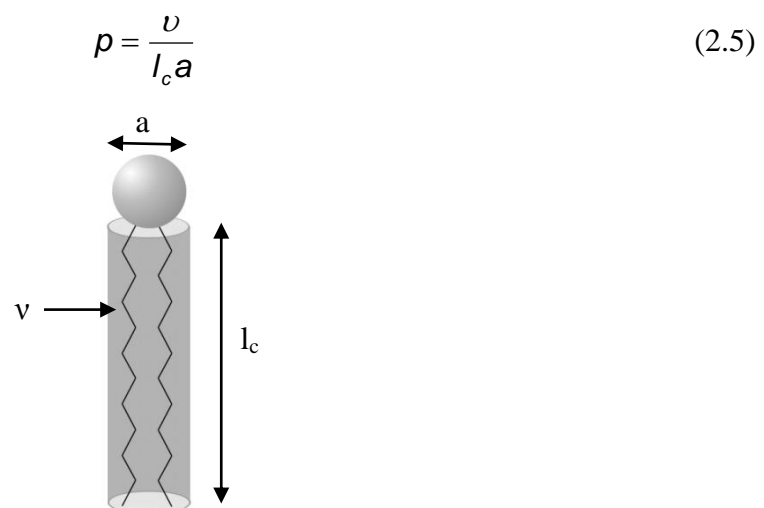


Abb. 2.5 Systematische Darstellung des dimensionlosen Packungsparameters eines Tensids (vereinfachte Abbildung durch eine hydrophile Kopfgruppe und 2 hydrophobe Ketten).

Da die hydrophoben Ketten als flüssig angenommen werden und damit keine all-trans-Konformation auftreten kann, wird die kritische Länge um den Faktor 0.7 kleiner

2 Grundlagen

angenommen als die Länge der vollausgestreckten Ketten mit n Kohlenstoffen^[44] (Gleichung (2.6)).

$$l_c \leq l_{\max} \approx (0.154 + 0.1265n)nm \quad (2.6)$$

Weiterhin berücksichtigt dieses Modell auch die oben genannten Einflüsse, z.B. die Variation der Größe der Kopfgruppe durch ionische Wechselwirkungen oder die Streckung der hydrophoben Ketten durch Scherströmung und damit auch die Umwandlung der verschiedenen Strukturen ineinander. Die folgenden Gleichungen geben an, welche Strukturen bevorzugt bei verschiedenen Packungsparametern entstehen.

$$\frac{v}{l_c a} < \frac{1}{3} \quad \text{sphärische Mizellen} \quad (2.7)$$

$$\frac{1}{3} < \frac{v}{l_c a} < \frac{1}{2} \quad \text{nicht-sphärische Mizellen} \quad (2.8)$$

$$\frac{1}{2} < \frac{v}{l_c a} \leq 1 \quad \text{Vesikel/ Doppelschichten} \quad (2.9)$$

$$1 < \frac{v}{l_c a} \quad \text{inverse Strukturen} \quad (2.10)$$

2.4 Vesikel

Für amphiphile Moleküle, wie z.B. Phospholipide, die zwei hydrophobe Ketten aufweisen, gilt, dass das Kettenvolumen ungefähr dem Produkt aus kritischer Kettenlänge und Größe der Kopfgruppe entspricht ($v = l_c \cdot a_0$). Der so erhaltene Packungsparameter von ungefähr 1 weist darauf hin, dass diese Moleküle Vesikel oder Doppelschichten ausbilden. Diese weisen energetisch ungünstige Enden auf, so dass sich sphärisch geschlossene Aggregate, sogenannte Vesikel, ausbilden ($\frac{1}{2} < p < 1$).

Vesikel sind amphiphile Doppelschichten, die ein definiertes Flüssigkeitsvolumen umschliessen (Abb. 2.6).

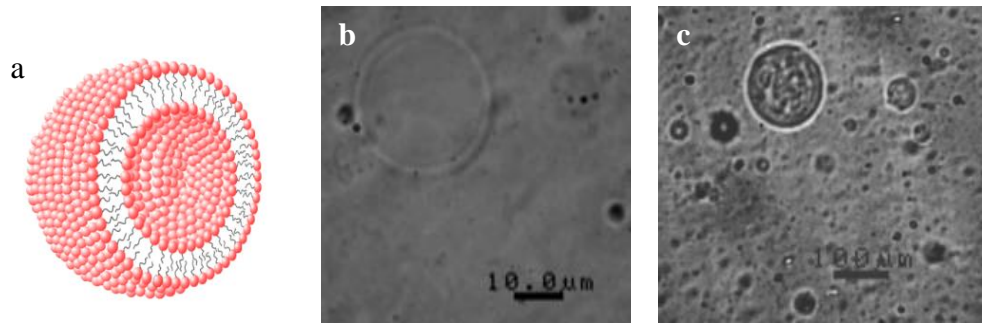


Abb. 2.6 Schematische Abbildung (a) und mikroskopische Aufnahmen (b und c) von Vesikeln. b) differentielle Interferenzkontrastaufnahme eines AOT-Vesikels, c) Hellfeld-Aufnahmen von DMPC-Vesikeln.

Das innere und äußere Medium sind dabei meist identisch. Vesikel können in einem breiten Größenspektrum von wenigen nm bis mehreren μm auftreten^[45]. Ihre Membran ist in der Regel 3-5 nm dick und verhindert weitestgehend eine Diffusion von Substanzen in das Innere oder nach außen. Desweiteren können sowohl im Inneren als auch in der hydrophoben Membran Wirkstoffe eingebaut und transportiert werden^[8,46,47].

2.4.1 Einteilung der Vesikel

Vesikel werden nach Kategorien differenziert. Zum einen erfolgt eine Aufteilung nach Anzahl der Doppelschichten, die das Vesikel aufbauen. Bei einer Doppelschicht spricht man von unilamellaren, bei mehrfachen Doppelschichten von multilamellaren Vesikeln. Die Unterscheidung kann mikroskopisch erfolgen^[48]. Zum anderen werden Vesikel nach ihrer Größe kategorisiert^[49]. Die folgende Tabelle 2.1 zeigt die Einteilung unilamellarer Vesikel nach ihrer Größe.

Tab. 2.1 Einteilung unilamellarer Vesikel anhand der Größe

Unilamellare Vesikel		Größe/ μm
SUV	kleine unilamellare Vesikel (<i>engl. small unilamellar vesicles</i>)	0.02 – 0.1
LUV	große unilamellare Vesikel (<i>engl. large unilamellar vesicles</i>)	0.1-1
GUV	riesige unilamellare Vesikel (<i>engl. giant unilamellar vesicles</i>)	>1

2.4.2 Gestalt von Vesikeln

Vesikel kommen in einer Vielzahl unterschiedlicher Formen und Gestalt vor. Doppelschichten aus Phospholipiden weisen einen starken thermotropen Polymorphismus auf. Bei Änderung der Temperatur findet innerhalb der Doppelschichtphase eine Umwandlung statt (Abb. 2.7).

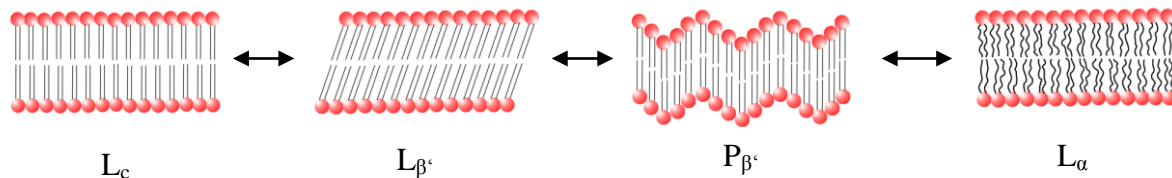


Abb. 2.7 Phasenumwandlung einer Doppelschicht in Abhängigkeit der Temperatur (Zunahme von links nach rechts).

Bei sehr niedrigen Temperaturen befindet sich die Doppelschicht in der L_c , der kristallinen Phase, bei der die einzelnen Moleküle stark in ihrer Beweglichkeit eingeschränkt sind. Bei Zunahme der Temperatur erfolgt eine Umwandlung in die $L_{\beta'}$ -Phase. Es tritt eine vermehrte Hydratisierung der Kopfgruppen und eine Neigung der Acylgruppen um 30° ein. Bei weiterer Erhöhung der Temperatur erstreckt sich die Doppelschicht in alle drei Raumrichtungen. Die $P_{\beta'}$ -Phase weist eine wellenförmige Struktur auf. Nach Überschreiten der Phasenumwandlungstemperatur T_m nimmt die Fluidität der Doppelschicht zu. Innerhalb der L_{α} -Phase weisen die Moleküle eine hohe Mobilität und schnelle Diffusion auf, weswegen die Vesikelherstellung oftmals in diesem Temperaturbereich durchgeführt wird. Bei Erhöhung der Temperatur erfolgt somit eine Zunahme der Membranfläche, welches durch die Veränderung eines Vesikels von der sphärischen in die elliptische Struktur sichtbar wird^[50-52].

Die Form der Vesikel wird stark durch den osmotischen Druck beeinflusst. Er tritt auf, wenn sich im Inneren Medium des Vesikels oder der Membran eine abweichende Anzahl an Molekülen befindet als im umgebenden Medium. Damit und durch andere äußere Einflüsse wie z.B. den Energieeintrag durch Licht ist eine Vielzahl verschiedener Vesikelformen zugänglich^[4,5,53-55]. Ausgehend von einer Kugel kann das Vesikel nur Teile der Membran verändern und z.B. ein Echinocyte oder auch Halbkugeln, Ellipsen, Pyramiden oder sternförmige Strukturen bis hin zu dünnen, langezogenen Myelinstrukturen bilden (Abb. 2.8).

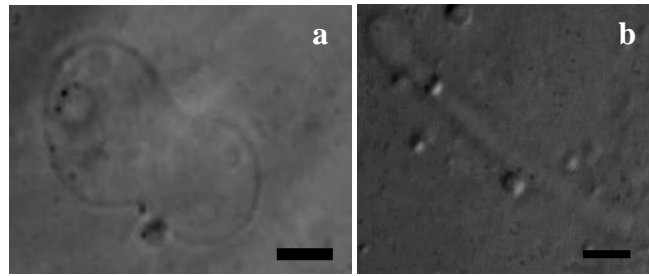


Abb. 2.8 Unterschiedliche Form eines AOT-Vesikels. a) leichte Deformation unter Ausbildung einer Hantel, b) myelinartige, langgezogene Struktur (Größenskala: 10 μm).

Diese Strukturänderungen beruhen auf einer Energieminimierung bei konstanter Membranfläche und konstantem innerem Volumen.

2.4.3 Dynamik und Kräfte in Doppelschichten

Wie in Abschnitt 2.3 beschrieben, beeinflussen die zwei hydrophoben Ketten der Phospholipide den Packungsparameter und bewirken damit die Ausbildung von Vesikeln oder Doppelschichten. Das Vorhandensein zweier hydrophober Ketten beeinflusst im Weiteren auch die CMC, die im Vergleich zu einkettigen Amphiphilen stark absinkt^[56]. Auch Diffusionvorgänge werden beeinflusst. Aggregate weisen eine hohe, thermische Beweglichkeit auf und es findet ein kontinuierlicher Austausch von Molekülen mit dem umgebenden Medium statt. In Doppelschichten steigt die Aufenthaltsdauer jedoch stark an (Tab. 2.2).

Tab. 2.2 Aufenthaltsdauer innerhalb von Aggregaten.

Aggregat	Aufenthaltsdauer/ s
Mizelle	10^{-4}
Doppelschicht	10^4

Die hydrophile Kopfgruppe beeinflusst den Diffusionsprozess des sog. Flip-Flops. Hierbei wandert ein Molekül von einer Seite der Doppelschicht zur anderen. Dieser Vorgang ist mit einem hohen energetischen Aufwand verbunden und benötigt einen größeren Zeitaufwand im Bereich von $t = 10^2$ - 10^5 s. Zur Beschreibung dieses Mechanismus gibt es mehrere Ansätze^[57-59]. Die dünne Doppelschicht, die ein Vesikel umgibt, ist somit eine stabile Barriere zwischen dem inneren und äußeren Medium.

2 Grundlagen

Diese dünne Membran ist hochelastisch und unduliert (fluktuiert) um eine Gleichgewichtslage. Drei Elastizitäten können dabei für die Membran von Vesikeln und Doppelschichten auftreten. Ausgangspunkt ist hierfür die Theorie dünner elastischer Hüllen [60-62].

Die Scherelastizität kann vernachlässigt werden, da sie für Moleküle, die als Flüssigkeit betrachtet werden können und kein Netzwerk ausbilden, ineffektiv ist. Für eine genauere Bestimmung dieser Elastizität muss die Scherung einzelner Moleküle betrachtet werden. Die Scherelastizität tritt bei biologischen Membranen auf, wie z.B. bei Erythrozyten, da diese ein netzwerkartiges Zytoskelett unterhalb der Doppelschicht ausbilden.

Die Dehnelastizität tritt bei einer Dehnung oder Stauchung der Membran auf. Sie ist gegeben als

$$E_s = \frac{1}{2} k_s \left(\frac{\Delta A}{A} \right)^2 \quad (2.11)$$

Typische Werte für den Dehnungsmodul k_s liegen im Bereich von 100-300 mN m⁻¹. Die Fläche eines Vesikel kann nur um ca. 5% deformiert werden, da eine große Menge an Energie dafür benötigt wird^[63,64].

Die dritte Elastizität ist die Krümmungselastizität. Hierfür wird die Doppelschicht als zweidimensionale Fläche betrachtet und der Ursprung eines kartesischen Koordinatensystems hineingelegt. Die z-Achse ist parallel zur Flächennormalen n . Nach HELFRICH gilt für die elastische Energie pro Flächeneinheit für kleine Deformationen

$$E_c = \frac{1}{2} k_c \left(\frac{\partial n_x}{\partial x} + \frac{\partial n_y}{\partial y} - c_0 \right)^2 + \bar{k}_c \left(\frac{\partial n_x}{\partial x} \cdot \frac{\partial n_y}{\partial y} - \frac{\partial n_x}{\partial y} \cdot \frac{\partial n_y}{\partial x} \right) \quad (2.12)$$

k_c/\bar{k}_c bezeichnen die Biegesteifigkeit, $\frac{\partial n_x}{\partial x} / \frac{\partial n_y}{\partial y}$ die Hauptkrümmungen und c_0 die spontane Krümmung, die durch Abweichungen von der idealen Fläche auftritt.

k_c beschreibt dabei die zylindrische Krümmung, \bar{k}_c beschreibt den Modul der sattelförmigen Gauß'schen Krümmung, analog zu Flüssigkristallen^[65]. Die Integration über eine sphärische Fläche liefert für die sattelförmige Energie nach dem Gauß-Bonnet-Theorem^[66] $4\pi \bar{k}_c$. Sie ist

2 Grundlagen

somit unabhängig von der Größe und Form der Membran und kann in den meisten Fällen vernachlässigt werden.

Für die gesamte Energie der Krümmungselastizität eines sphärischen Vesikels ergibt sich somit mit $\bar{k}_c = 0$, $c_0 = 0$

$$E_c = 8\pi k_c \left(1 - \frac{r_0 c_0}{2}\right)^2 + 4\pi \bar{k}_c = 8\pi k_c \quad (2.13)$$

Diese elastische Energie ist notwendig um eine geschlossene, sphärische Membran zu erhalten. Typische Werte für die Biegesteifigkeit liegen im Bereich von $k_c = 0.5 - 2 \cdot 10^{-19}$ J [67-69].

Die Größe, die im thermodynamischen Gleichgewicht für Vesikel erhalten wird, ist von dieser Biegesteifigkeit abhängig. Sie ist in der Regel positiv, da eine Deformation der Doppellage zu einem Anstieg der freien Energie führen muss. Ein Zuwachs an kleinen Vesikeln vergrößert somit die Entropie, was nicht unbegrenzt möglich ist. Die Biegesteifigkeit der Membran ist nur bis zu einer Persistenzlänge möglich. Bis zu dieser Länge können Gestaltfluktuationen auftreten. Die Biegesteifigkeit nimmt damit einen effektiven Wert an, der gegeben ist als [70-72]

$$k_c^{eff}(L) = k_c - \alpha \frac{k_B T}{4\pi} \ln \left[\frac{L}{l} \right] \quad (2.14)$$

mit α ionischer Wechselwirkungsparameter, T der Temperatur, L der Größenordnung des Systems und l der Größenordnung der Moleküle.

2.4.4 Bedeutung von Vesikeln als Funktion der Zelle

Vesikeldoppellagen ähneln in ihrem Aufbau biologischen Membranen. Sie setzen sich aus unterschiedlichen Gemischen von Lipiden und Proteinen zusammen. Die Proteine können dabei peripher (an der Oberfläche eingebaut) oder integral (membrandurchstreckend) sein und „schwimmen“ in der Lipiddoppelschicht („fluid mosaic model“ [73]). Diese Membranen sind hochselektive Permeabilitätsschranken, die den freien Stofftransport beschränken bzw. spezialisieren. Sie dienen dem Stoff- und Informationsaustausch und können Strukturdefekte spontan reparieren. Innerhalb von Zellen gibt es weitere intrazelluläre Membranen wie z.B. das endoplasmatische Retikulum und auch Membran-umschlossene Organellen wie z.B. die Mitochondrien und der Zellkern.

2 Grundlagen

Membranen können miteinander wechselwirken, z.B. durch van-der-Waals-, elektrostatische, sterische und Hydratationskräfte. Eine weitere wichtige Wechselwirkung ist die Adhäsion. Sie bewirkt eine Fusion von Zellen und Vesikeln. Vesikel oder auch Endosomen genannt dienen im Organismus als Transportbehälter. Anders als der aktive Transport durch biologische Membranen benötigen die Bildung und die Aufnahme von Vesikeln (Abb. 2.9) keine Energie in Form von ATP (Adenosintriphosphat).

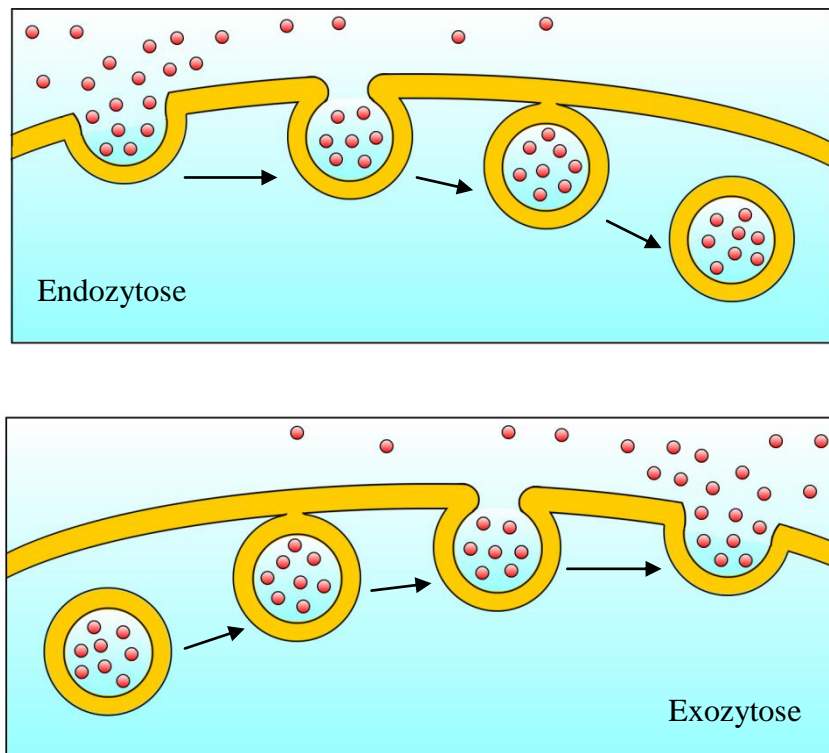


Abb. 2.9 Aufnahme (Endozytose) und Abgabe (Exozytose) von aktiven Substanzen in die Zelle/ aus der Zelle.

Die Aufnahme eines Vesikels in die Zelle wird Endozytose genannt. Sie wird weiter nach den Inhaltsstoffen des Vesikels unterschieden. Bei der Pinozytose beinhaltet das aufgenommene Vesikel vorrangig gelöste Stoffe, bei der Phagozytose können auch feste Nahrungspartikel oder ganze Zellen aufgenommen werden. Bisher am besten untersucht ist die sogenannte rezeptorgesteuerte Endozytose. Sie dient vor allem für die Aufnahme von Cholesterin, Hormonen, Toxinen oder Viren und erfolgt über Clathrin-Hüllen ^[74-78], die bei Eintritt der Vesikels in die Zelle eine Polymerschutzhülle während des Transports bilden. Der gegenteilige Prozess, die Abgabe von Zellinnerem nach außen wird Exozytose genannt und wird durch Membranproteine stimuliert. Auch andere Zellteile wie das endoplasmatische

2 Grundlagen

Retikulum, der Golgi-Apparat und die Lysosomen haben Einfluss auf die Endo- und Exocytose, deren Vorgang nur 0.1 – 1 ms benötigt.

2.4.5 Herstellung von Vesikeln

Vesikel weisen je nach Größe und Lamellarität unterschiedliche Eigenschaften auf. Da sie vielfältig eingesetzt werden können und in der Medizin vielversprechende Zukunft haben, wurde versucht auf unterschiedliche Weise schnell, günstig und vor allem kontrolliert monodisperse Vesikel einer definierten Größe herzustellen. Sie können mit einer Vielzahl von Methoden ^[79-81] hergestellt werden, die im Folgenden näher beschrieben werden.

2.4.5.1 Katanionische Tensidsysteme

Kleine unilamellare Vesikel (SUV) können bei der Mischung von kationischen und anionischen Tensiden entstehen^[2,82]. Ein Beispiel dafür ist die Mischung von Tetradecyltrimethylammoniumbromid (TTABr) und Natriumlaurylsulfat (TexNa). Die entgegengesetzt geladenen Tensiden lagern sich an einander und bilden eine Einheit mit einer großen, hydrophilen Kopfgruppe und zwei hydrophoben Alkylketten, ähnlich einem Phospholipid. Der so veränderte Packungsparameter sorgt für eine spontane Aggregation dieser Molekülpaare zu Vesikeln. Kleine Vesikel weisen aufgrund ihrer Asymmetrie hohe Membranspannungen auf. Sie besitzen eine unterschiedliche Anzahl an Molekülen und weisen eine unterschiedliche Krümmungen der jeweiligen Monoschicht auf, was zu einer hohen Instabilität führt.

2.4.5.2 Extrusion

Zur Herstellung großer unilamellarer Vesikel (LUV) kann die Extrusion verwendet werden^[83,84]. Hierbei wird eine Lösung multilamellarer Vesikel mehrfach durch Polycarbonatmembranen gepresst. Dabei werden die multilamellaren Vesikel stark deformiert und zerfallen in große unilamellare Vesikel. Die Größe der so hergestellten Vesikel lässt sich leicht durch die Verwendung unterschiedlicher Porengrößen der Polycarbonatmembran variieren, weist aber immer noch eine breite Verteilung auf.

2.4.5.3 Quellmethode und Elektropräparation

Zwei schon langjährig bewährte Methoden zur Herstellung von riesigen unilamellaren Vesikeln (GUV) sind die Quellmethode und die Elektropräparation.

Bei der Quellmethode ^[10,85,86] wird eine Phospholipidlösung in Chloroform und Methanol auf eine Glas- oder Teflonoberfläche aufgebracht. Das Lösungsmittel wird mit Hilfe von Vakuum verdampft, so dass sich ein Lipidfilm auf der Oberfläche absetzt. Nach Überschichtung dieses Films mit einer elektrolytfreien, wässrigen Lösung quellen Vesikel von der Oberfläche auf und diffundieren in die wässrige Phase (Abb. 2.10).

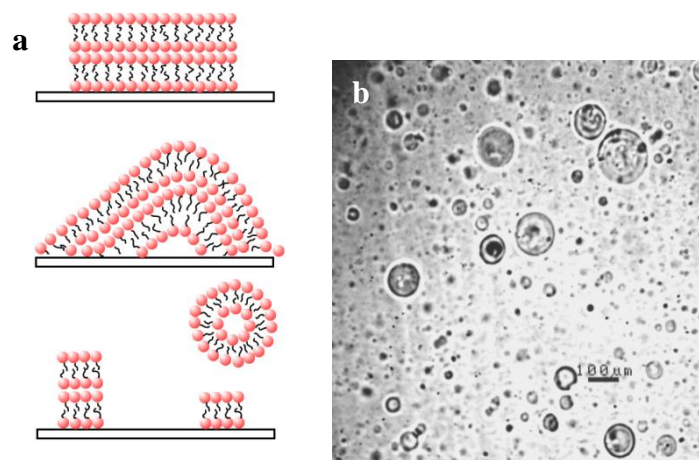


Abb. 2.10 Schematische Darstellung der Quellmethode (a) und mit dieser Methode hergestellte DMPC-Vesikel (b, Hellfeld-Mikroskopieaufnahme).

Bei der Elektropräparation ^[11] wird ein Lipidfilm auf einer von zwei Elektroden aufgebracht. Die Elektroden bestehen aus zwei parallelen Glasplatten, die anschließend in eine wässrige Lösung getaucht werden. Bei Anlegung einer Spannung entstehen an der Elektrode unilamellare Vesikel, die jedoch erst nach Abschalten der Spannung in die Lösung diffundieren.

Beide Methoden haben den Nachteil, dass eine sehr breite Größenverteilung an Vesikeln entsteht, von denen viele multilamellar sind.

2.4.5.4 Strömung durch eine black lipid membrane und W/O/W-Emulsionen als Prävesikel

Neuere Methoden riesige Vesikel (GUV) herzustellen, haben zum Ziel die Lamellarität zu bestimmen und die Größenverteilung zu reduzieren.

Für das Durchströmen einer „black lipid membrane“ ^[12,87] ist es zunächst notwendig über ein Loch von 1-2 mm Durchmesser eine Lipiddoppellage zu spannen. Hierfür werden die Lipide

2 Grundlagen

in Chloroform zunächst über eine wäßrige Lösung in das Loch geschichtet. Eine weitere wäßrige Lösung wird über die Lipidlösung geschichtet und das Lösungsmittel verdampft. Das Erzeugen einer „black lipid membrane“ ist dabei von vielen Faktoren abhängig und schwierig. Nach Erzeugung der Membran wird diese mit einem gepulsten Flüssigkeitsstrom durchstoßen. Die Membran krümmt sich dabei und reißt unter Ausbildung eines Vesikels ab. Zur erneuten Herstellung eines Vesikels wird eine neue „black lipid membrane“ benötigt.

Bei der Methode auf Basis von W/O/W (Wasser in Öl in Wasser)-Emulsionen dienen diese als Prävesikel^[13,88-90]. Mit Hilfe einer Doppelkapillare wird in einer wäßrigen Lösung eine W/O/W-Emulsion erzeugt. Der innere Tropfen beinhaltet dabei ebenfalls die wäßrige Lösung, der mittlere Bereich wird von einer Lipidlösung in Chloroform/ Toluol gebildet. Um eine gleichmäßige Tropfenbildung zu gewährleisten, wird ein paralleler Fluß der inneren, mittleren und äußeren Phase erzeugt. Zur Anpassung der Größe werden die Flußraten variiert. Nach Erzeugung der Emulsion entstehen durch einfaches Verdampfen des Lösungsmittels die unilamellaren Vesikel (Abb. 2.11). Dieses System ist sehr anfällig gegen osmotischen Druck durch überschüssige Lipidmoleküle, so dass sehr oft nicht-sphärische Vesikel erhalten werden.

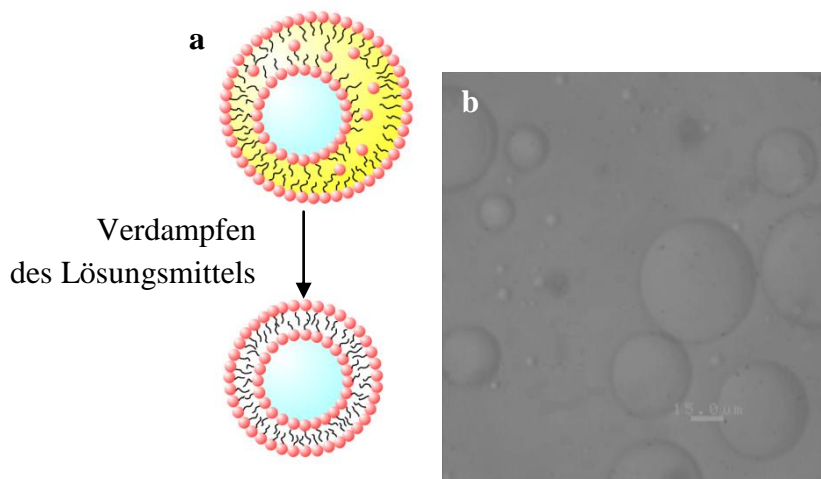


Abb. 2.11 Schematische Darstellung der Herstellung von Vesikeln aus W/O/W-Emulsionen (a) und mit der Methode hergestellte DPPC-Vesikel (b, Phasenkontrast-Mikroskopie-Aufnahme).

2.4.5.5 Die Phasentransfermethode

Die in dieser Arbeit eingehend untersuchte Methode zur Vesikelherstellung, ist die Methode des Phasentransfers (Abb. 2.12). Sie wird in mehreren Publikationen erwähnt^[91-98].

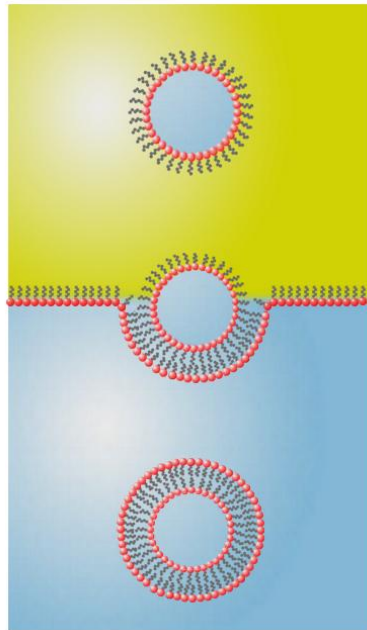


Abb. 2.12 Schematische Darstellung der Methode des Phasentransfers zur Vesikelherstellung.

Für diese Methode wird eine wässrige Phase mit einer Ölphase überschichtet. In einer der beiden Phasen werden Tenside gelöst, die aufgrund ihrer Amphilie zur Grenzfläche diffundieren und an dieser adsorbieren. In einem weiteren Schritt wird eine W/O-Emulsion erzeugt. Dies kann durch Ultraschall, einfaches Durchmischen oder durch Sprays erfolgen. Die Wassertropfen werden dabei ebenfalls von einer Tensidschicht umhüllt, die im Vesikel die innere Membranschicht darstellt. Die Emulsion wird zur ersten Ölphase gegeben und ihre Wassertropfen durch Anlegen einer äußeren Kraft durch die Grenzfläche transportiert. Diese äußere Kraft kann eine Zentrifugal-, Gravitations- oder elektrisch-beschleunigende Kraft sein. Beim Transfer durch die an der Grenzschicht gebildete Tensidmonoschicht, umschließt diese den Wassertropfen mit der Tensidschicht und bildet die äußere Membranschicht des Vesikels aus. Dieses kann in die wässrige Phase diffundieren.

Die Vorteile dieser Methode sind zum einen die Unilamellarität der Vesikel. Ein weiterer Vorteil ist die einfache Größenvarianz. Durch Änderung der Emulsionstropfengröße kann die Größe der Vesikel gesteuert werden. Weiterhin können Wirkstoffe sehr leicht in die Vesikel oder Vesikelmembran eingebaut werden, indem sie bereits in den Emulsionstropfen oder der Ölphase gelöst werden.

2.4.6 Wirkstoffeinbau in Vesikel

Vesikelmembranen sind hochselektive Permeabilitätschranken, so dass aufgrund der geringen Diffusion durch die Membran Vesikel sehr gut als Wirkstofftransporter geeignet sind. Es können verschiedene hydrophile und hydrophobe Stoffe in Vesikel eingebaut werden, z.B. Fluoreszenzstoffe, Medikamente, Enzyme^[3,99-101]. Hierbei spielt der osmotische Druck eine bedeutende Rolle. Dieser ist gegeben als^[13]

$$\pi_{osm} = ck_B T \quad (2.15)$$

mit c der molaren Konzentration, k_B der Boltzmannkonstante und T der Temperatur. Um eine Formänderung der Vesikel zu verhindern, sollte kein osmotischer Druck aufgebaut werden. Im inneren und äußeren des Vesikels sollte dieselbe Konzentration/ Anzahl von Molekülen vorliegen. Dabei ist es nicht notwendig, dass sich im inneren der Vesikel und im umgebenden Medium identische Moleküle vorhanden sind. Genauso zahlreich wie die Auswahl an Chemikalien, die eingebaut werden können, sind die Detektionsmöglichkeiten der Einbaueffizienz. So können Fluoreszenzmessungen, UV-Messungen oder NMR-Messungen^[102-104] durchgeführt werden. Für fast alle diese Messmethoden ist eine Aufreinigung der Vesikel notwendig. Da die Vesikel in der Regel im selben Medium sind, in dem sie hergestellt wurden, muss zunächst eine Abtrennung der äußeren Phase von den Vesikeln durchgeführt werden. Dies geschieht über quervernetzten Dextran-Säulen oder durch Dialyse. Nur in wenigen Fällen ist eine Aufreinigung nicht notwendig. Zur Bestimmung der eingebauten Wirkstoffmenge wird zunächst die Vesikelsuspension vermessen. Anschließend werden die Vesikel durch Zusätze mit Detergenzien wie z.B. Triton X-100 oder SDS^[105-108] zerstört. Diese Detergenzien wechselwirken mit der Membran und interkalieren mit ihr, so dass eine Änderung der Aggregation hin zu Mizellen stattfindet. Der Wirkstoff wird dabei aus den Vesikeln freigesetzt und diese Lösung wird ebenfalls vermessen. Durch Vergleich der beiden Messwerte kann die Einbaueffizienz bestimmt werden. Zur Bestimmung können auch Stoffe eingesetzt werden, die durch die Vesikelmembran diffundieren und anschließend mit dem Wirkstoff wechselwirken. Da dieser Vorgang aufgrund der Diffusion durch die Membran gehemmt ist, kann damit auch die Permeabilität der Membran bestimmt werden^[103].

2.4.7 Anwendungsbeispiele vesikulärer Systeme

Im Folgenden sollen drei Anwendungsbeispiele für vesikuläre Systeme näher betrachtet werden: Vesikel als Modellsysteme für Zellen, Vesikel als Transportbehälter von Medikamenten und Vesikel als Bioreaktoren.

Vesikel dienen als Modellsysteme für Zellen vor allem zur Erforschung des Zusammenschlusses und der Auftrennung von mehreren Vesikeln^[4,5]. Diese Vorgänge spielen bei der Endo- und Exozytose sowie bei Selbstorganisationsprozessen der Lipidmembran eine wichtige Rolle und ihre Mechanismen sind bis heute nicht vollständig verstanden. Gegenwärtig sind zwei Mechanismen postuliert. Zum einen geht man von einer Phasenseparation in Lipidmischungen aus, die eine Linienspannung zu Folge hat. Zum anderen wäre eine spontane Krümmung denkbar, die z.B. osmotisch induziert wird. Vesikel können die Zellmembran nur vereinfacht wiedergeben. Der Einfluss von Proteinen in der Zellmembran sowie die Verkapselung der Vesikel mit Clathrin an Rezeptoren^[74,75,109-111] ist nicht vollständig geklärt.

Vesikel finden als Transportbehälter für Medikamente Einsatz. Polymersomen (Vesikel aus Block-Co-Polymeren) werden bis zu einer Größe von 100 nm über Pinozytose in die Zelle aufgenommen. Vesikel finden vermehrte Anwendung in der Krebsbehandlung. Es konnte eine reduzierte Toxizität von Wirkstoffen gezeigt werden, wenn diese in Liposomen eingebaut wurden. Die Menge an Wirkstoff für den LD₅₀-Wert stieg bei Mäusen um 53%^[8]. Auch eine Steigerung der Effektivität der Wirkstoffe konnte nachgewiesen werden. Nach einer Behandlung von Mäusen mit freien und in Liposomen eingebauten Wirkstoff konnte die Überlebensrate (90 Tage nach Wirkstoffgabe) um 10% gesteigert werden. Warum Wirkstoffe in Liposomen eine Steigerung der Wirkung zeigen, ist noch nicht vollständig geklärt. Es werden reduzierte toxische Wirkung, eine Anknüpfung an Tumorzellen, ein Schutz vor der Degeneration des Wirkstoffs sowie eine regulierte Wirkstoff-Freigabe^[112]. angenommen.

Ein weiteres Anwendungsgebiet beschreibt den Einsatz von Vesikel als Bioreaktoren. Es können mit Vesikeln Wirkstoffe wie z.B. GFP (green fluorescent protein)-kodierendes DNA Plasmid in Zellen eingeführt werden. Nach Einbau dieser DNA in den Zellkern konnte mittels Fluoreszenz gezeigt werden, dass das entsprechende Protein gebildet wird^[9,113]. Der Einbau in die Zelle mittels Vesikeln ist hierbei effektiver als mit nonviralen DNA Einbausystemen. Reaktionen mit gesteigerter Ausbeute können ebenfalls in Vesikeln stattfinden. In Vesikel wurde z.B. das zellfreie Expressionssystem für die Transkription und Translation von eGFP (enhanced green fluorescent protein) eingebaut. Es konnte gezeigt werden, dass zum einen die

2 Grundlagen

Reaktionszeit im Vergleich zur reinen Lösung um mehr als das Doppelte zunahm (von 2h auf 5h) und auch die Ausbeute um das 2-3fache gesteigert werden konnte. Wurde in das Vesikel noch ein Porenprotein eingebaut, welches die Permeabilität erhöhte, konnte die Reaktionszeit auf 4 Tage und die Ausbeute auf das 20fache der reinen Lösung gesteigert werden. Somit bieten Vesikel einen optimalen Reaktionsraum, wenn eine Trennung von Edukten und Produkten notwendig ist.

2.5 Emulsionen

Eine Emulsion ist eine heterogene Mischung zweier Flüssigkeiten, bei der eine tröpfchenförmig verteilt in der anderen vorliegt. Dieses System ist thermodynamisch instabil und die beiden Phasen tendieren zu einer Phasenseparation. Aufgrund des Bestrebens des Systems die geringste Grenzfläche bei größtem Volumen zu erhalten, trennen sich die Phasen nach einer gewissen Zeit auf. Dies geschieht durch Ostwaldreifung, Koaleszenz, Flockung oder Aufrahmen/ Sedimentation. Es können zwei Arten von Emulsionen unterschieden werden (Abb. 2.13).

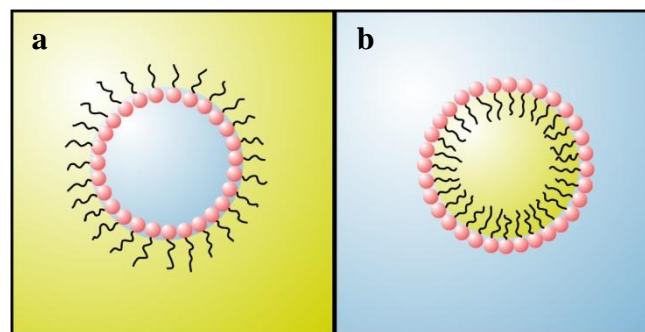


Abb. 2.13 Darstellung unterschiedlicher Arten von Emulsionen, a) W/O (Wasser-in-Öl)-Emulsion, b) O/W (Öl-in-Wasser)-Emulsion.

Liegen Öltröpfchen in einer kontinuierlichen Wasserphase vor, spricht man von einer O/W (Öl in Wasser)-Emulsion, liegen Wassertropfen in einer kontinuierlichen Ölphase vor, von einer W/O (Wasser in Öl)-Emulsion. Beide Emulsionsarten sind stark lichtstreuend und können über die Größenverteilung und die Tröpfchenanzahl charakterisiert werden. Emulsionen mit einem inneren Volumenanteil von $\varphi > 30\%$ weisen ein nicht NEWTONsches Fließverhalten auf. Um Emulsionen zu erzeugen, ist ein Energieeintrag in das System notwendig. Dieser kann durch Rühren, turbulentes Vermischen, Scherkräfte oder Ultraschallbehandlung erhalten werden. Um eine größere Stabilität der Emulsionen zu erhalten und eine Phasenseparation zu

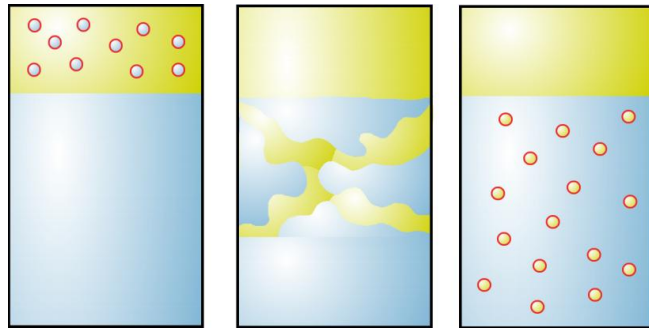
2 Grundlagen

verlangsamen, werden Tenside (oder auch Proteine, Januspartikel, usw.) in das System gegeben, die an den Grenzfläche adsorbieren. Dadurch kann es zu weiteren Emulsionstypen kommen, den W/O/W (Wasser in Öl in Wasser)-Emulsionen (vgl. Abb. 2.11 a) und den O/W/O (Öl in Wasser in Öl)-Emulsionen. Der HLB (*engl.* hydrophilic-lipophilic-balance)-Wert und damit die Löslichkeit der Tenside in den jeweiligen Phasen geben dabei Aufschluss, welcher Emulsionstyp gebildet wird.

Um eine Erklärung für die Stabilität der Emulsionen zu erhalten, müssen zum einen Aspekte der DLVO-Theorie berücksichtigt werden^[114,115]. Hierbei spielt die Ionisation der Oberfläche als elektrochemische Doppelschichtbarriere und die van-der-Waals-Attraktionskraft eine Rolle. Weiterhin sind Anziehungs- und Dispersionskräfte sowie Marangoni-Effekte relevant. Auch Aspekte neben der DLVO-Theorie wie Oberflächenkräfte, Abstoßung durch Hydratisierung sowie Abreicherungen von Tensiden an den Grenzflächen sind für die Stabilität wichtig.

2.5.1 Mikroemulsionen

Mikroemulsionen sind tertiäre oder quartäre Systeme^[116]. Sie bestehen aus einer Mischung aus Wasser, Öl, Tensid. Durch Zugabe des Cotensids ändern sich die Eigenschaften des Systems und eine spontane Emulsionsbildung tritt auf. Diese Mikroemulsion ist thermodynamisch stabil, optisch isotrop und transparent. Die Größe der Tropfen in Mikroemulsionen beträgt $d = 10\text{-}200$ nm. Die Flüssigkeit weist ein NEWTONsches Fließverhalten und ein reversibles Temperaturverhalten auf. Die Grenzflächenspannung dieser Systeme liegt im Bereich von $10^{-2}\text{-}10^{-6}$ mN m⁻¹. Mikroemulsionen weisen ein hohes Solubilisierungs- und Lösungsvermögen auf und können in verschiedene WINDSOR-Typen^[15] kategorisiert werden (Abb. 2.14).



Typ 1

Typ 3

Typ 2

Abb. 2.14 Darstellung der WINDSOR-Phasen die in Mikroemulsionssystemen auftreten können. Typ 1) W/O-Mikroemulsion, Typ 2) O/W-Mikroemulsion und Typ 3) Mikroemulsionen mit Domänenstruktur.

Wie bei Emulsionen kann eine O/W-Mikroemulsion auftreten. Diese liegt in Typ 1) neben einer kontinuierlichen Ölphase vor. Typ 2) entspricht dem W/O-Emulsionstyp und liegt neben einer kontinuierlichen Wasserphase vor. Dazwischen existiert eine bikontinuierliche Phase, in der schwammartige Gebilde von Öl- und Wasserdomänen nebeneinander existieren. Die Ausbildung der Phase ist abhängig von der Temperatur, Tensidkonzentration und Volumen der inneren Phase.

2.5.2 Elektrospray

Neben den in Abschnitt 2.5 genannten Möglichkeiten zur Bildung einer Emulsion kann auch die Technik des Elektrosprays verwendet werden. Unter einem Elektrospray versteht man eine Zerstäubungstechnik, deren Aufbau in Abb. 2.15 skizziert ist.

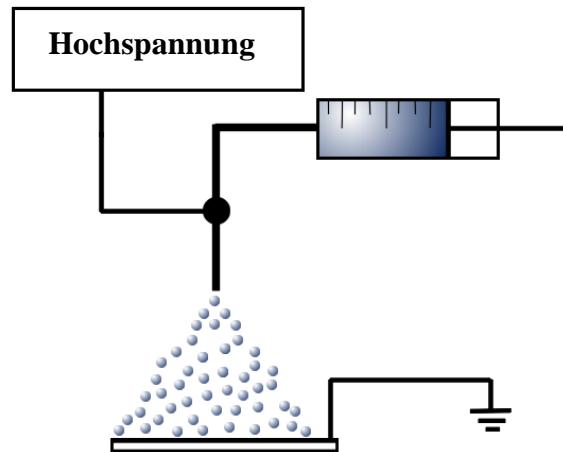


Abb. 2.15 Darstellung einer Elektrospray-Apparatur. An die Kanüle ist ein Hochspannungsgerät angeschlossen. Eine Platte dient als Gegenelektrode. Als Dosiereinheit wird eine Spritzenpumpe verwendet.

Eine Elektrospray-Apparatur besteht aus einer Spritzenpumpe, an die eine Hochspannungsquelle angeschlossen ist und einer Gegenelektrode, die sowohl als Platte als auch als Ringelektrode aufgebaut sein kann^[117-119]. Durch die Pumpe wird an der Kapillare ein Meniskus einer elektrisch leitenden Flüssigkeit erzeugt, der durch Oberflächenspannung, Druckänderung entlang der freien Oberfläche und MAXWELL Spannungen seine gekrümmte Form behält. Von diesem Meniskus geht ein Flüssigkeitsstrahl ab, dessen Durchmesser kleiner als der Kapillardurchmesser ist. Von ihm reißen aufgrund von RAYLEIGH Instabilitäten Tropfen mit identischem Durchmesser ab, was zu einer monodispersen Größenverteilung führt.

Durch Änderungen der Spannung, der Flussrate, der elektrischen Leitfähigkeit, der Viskosität und der dielektrischen Konstante kann die Tropfengröße angepasst werden. Generell gilt, je höher die angelegte Spannung und je geringer die Flussrate, desto kleiner werden die Tropfen. Nach Betrachtung des energetischen Gleichgewichtes^[120] ergibt sich für den theoretischen Tropfenradius

$$K_d = \frac{R_d}{(\rho Q^2 / \Delta P)^{1/4}} \quad (2.16)$$

mit K_d einer universellen Konstante, ρ der Dichte der Flüssigkeit, Q der Flussrate der Flüssigkeit und ΔP einem Druck, der sich durch Betrachtung des Einfluss des elektrischen Feldes, der kinetischen Spannungsenergie und der mechanischen Eigenschaften des Tropfendruck ergibt. Sowohl für die Spannung als auch für die elektrische Leitfähigkeit gibt

2 Grundlagen

es Begrenzungen, abhängig von gewählten System, außerhalb derer keine oder nur eine polydisperse Bildung der Emulsion stattfindet.

2.5.3 Koaleszenz von Tropfen miteinander und an Grenzflächen

Wenn zwei Wassertropfen in einem nicht mit Wasser mischbaren Medium auf einander treffen oder wenn ein Wassertropfen auf eine Grenzfläche Wasser/ Lösungsmittel trifft, kommt es zu einer Deformation der Tropfen und der Grenzfläche unter Ausbildung eines dünnen Films des Lösungsmittels zwischen beiden wäßrigen Phasen (siehe Abb. 2.16)^[121,122].

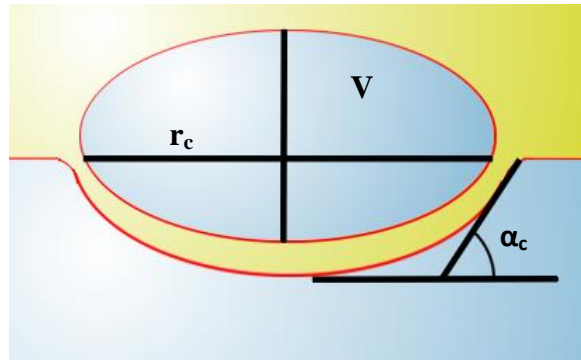


Abb. 2.16 Schematische Darstellung eines Wassertropfens auf einer Flüssig/ Flüssig-Grenzfläche.

Zu einem bestimmten Zeitpunkt t gilt für das Kräftegleichgewicht

$$\Delta\rho gV = 2\pi r_c \sigma \sin\alpha_c + \Delta p_c \pi r_c^2 \quad (2.17)$$

mit $\Delta\rho$ dem Dichteunterschied der Lösungen, g der Gravitationskonstante, V_t dem Tropfenvolumen, σ der Grenzflächenspannung, α_c dem maximalen Kontaktwinkel zwischen deformierter Wasserfläche und dem Lösungsmittelfilm, Δp_c dem Druckunterschied zwischen dem Lösungsmittelfilm und dem Tropfen sowie r_c dem horizontalen Tropfenradius (Längsachse der Ellipse).

Der Lösungsmittelfilm dünnt im Verlauf der Zeit t aufgrund eines radialen Druckgradienten, auch Spaltdruck genannt, aus. Die minimale Filmdicke d tritt dabei am äußeren Ende der Tropfenellipse auf. Der Grenzradius r an der Stelle der minimalen Filmdicke ist dabei gegeben durch

$$r = \frac{3V}{4\pi}^{\frac{2}{3}} \sqrt{\frac{2\Delta\rho g}{3\sigma}} \quad (2.18)$$

Die durchschnittliche Filmdicke zu einem bestimmten Zeitpunkt t ist für Tropfen, die einen kritischen Radius unterschreiten, immer kleiner als für Tropfen, deren Radius um ein Vielfaches größer ist. Diese kleinen Tropfen benötigen aufgrund ihrer geringen Verformbarkeit länger für die Koaleszenz als größere. Ein schematischer Verlauf der Koaleszenzzeit gegen die Tropfengröße ist in Abb. 2.17 dargestellt. Die Drainagezeit t_{Drainage} gibt dabei einen Wert für die Zeit wieder, die der Lösungsmittelfilm benötigt um aus dem Spalt zwischen den wäßrigen Phasen zu fließen. Sie beschreibt somit den Zeitraum von der Annäherung zweier Tropfen oder eines Tropfens an die Grenzfläche bis zum Beginn der Koaleszenz.

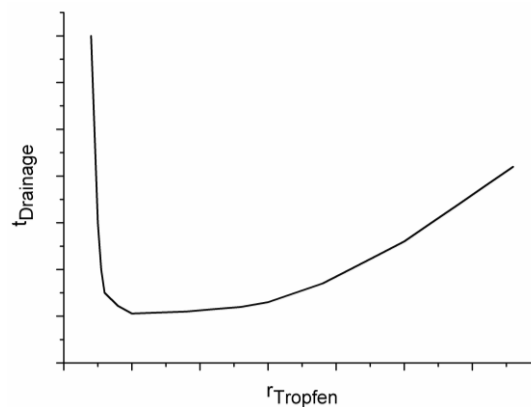


Abb. 2.17 Schematischer Verlauf der Drainagezeit in Abhängigkeit des Tropfenradius.

In Abb. 2.18 ist der Verlauf der Tropfendeformation bei Annäherung zweier Tropfen dargestellt^[123].



Abb. 2.18 Schematische Darstellung der Grenzflächendeformation bei Annäherung zweier Tropfen. a) Großer Tropfenabstand: keine Deformation, b) 1. Annäherung: Ausbildung von Vertiefungen, c) Abflachen der Tropfenoberflächen bei einem Abstand von 15-200 nm, d) Erneute Ausbildung von Vertiefungen und Oberflächenwellen aufgrund von äußeren Einflüssen. Anschließend erfolgt die Ausbildung eines NEWTON Black Films (NBF) oder eines Tropfenaufbruchs bzw. Koaleszenz.

2 Grundlagen

Bei großen Abständen (a) tritt keine Veränderung der Tropfenoberfläche auf und die Wechselwirkung zwischen den Tropfen ist gering und kann daher vernachlässigt werden. Bei einer weiteren Annäherung (b) treten Kapillarkräfte und der oben erwähnt Spaltdruck sowie viskose Einflüsse auf. Da diese Kräfte entgegengesetzt wirken, verformen sich die Tropfenoberflächen unter Ausbildung von Vertiefungen („dimples“). Dies geschieht alles innerhalb des mit Gleichung 2.18 beschriebenen Grenzradius. Nähern sich die Tropfen weiter an, wie es in Abb. 2.18 (c) dargestellt ist, tritt ein Kräftegleichgewicht ein, bei dem die Tropfenoberflächen stark abflachen und sich mit einem Abstand von 15-200 nm annähernd parallel zueinander ausrichten. Durch andere Einflüsse von außen wie z.B. der Temperatur kann dieses Kräftegleichgewicht gestört werden. Es treten erneut Wellen in den Tropfenoberflächen auf, die bei einer Unterschreitung einer kritischen Filmdicke zur Koaleszenz oder der Ausbildung eines „Newton Black Films“ (NBF) führen. Ein NBF bildet sich nur bei Vorhandensein von Tensiden aus, wenn diese eine Doppelmembran ohne Lösungsmittelfilm formen. Zur Ausbildung eines NBF muss neben einem positiven Spaltdruck (attraktive Wechselwirkung) eine weitere ausreichend große abstoßende Kraft mit einem kurzen Wirkungsbereich auftreten^[124].

Der Spaltdruck spielt für den Tropfenauflauf sowie die Koaleszenzzeit eine entscheidende Rolle. Er setzt sich zusammen aus hydrodynamischen Wechselwirkungen, Hydratationskräften, sterischen und Abreicherungsphänomenen sowie elektrostatischen Kräften zusammen und kann sowohl positiv als auch negativ sein und somit anziehend oder abstoßend wirken. Er kann näherungsweise durch die DLVO-Theorie beschrieben werden. Im Rahmen dieser Doktorarbeit wird hierfür auf numerische Simulationen in der Literatur verwiesen^[123-125].

2.5.3.1 Einfluss von Ionen und Tensiden auf den Koaleszenzprozess

Für neutral geladene Lipiddoppelschichten und nicht-ionische Tenside beschreibt die DLVO-Theorie die Tropfenkoaleszenz nur unzureichend. Es muss somit neben den Hydratationskräften, den Wasserstoffbrückenbindungen und den Dipol-Wechselwirkungen auch die Krümmung der Tropfenoberflächen berücksichtigt werden. Eine Näherung ergibt, dass der Spaltdruck aufgrund der thermischen Krümmung proportional zur inversen kubischen Filmdicke ist. Die Krümmung kann durch die Biegesteifigkeit κ_c beschrieben werden.

2 Grundlagen

Der Zusatz von Ionen kann die Krümmungseigenschaften stark beeinflussen. So kann z.B. ein Li-Ion aufgrund der stärker anhaftenden Hydrathülle nicht so nah an eine Grenzfläche herankommen wie ein Cs-Ion. Die Tropfenoberfläche erfährt mit Li keine Behinderung und die Krümmung kann leichter erfolgen als mit Cs^[126].

Durch eine hohe thermische Krümmung und damit verbundenen Fluktuationen können potentielle Kräfte zur Ausbildung von NBF leichter überwunden werden. Da diese Fluktuationen jedoch auch zu einer Unterschreitung des kritischen Filmabstandes führen können, begünstigen sie eine kurze Lebensdauer dieser Filme. Bei niedrigen Salzkonzentrationen sind die elektrostatischen Kräfte in den Doppelschichten größer als Hydratationskräfte. Dies führt bei einer Zunahme von äußeren Kräften ebenfalls zu einer schnellen Koaleszenz. Die Ionenkonzentrationen sollte so gewählt werden, dass sich eine optimale Krümmung einstellt, die ihrerseits die Ausbildung eines langzeitstabilen NB Filmes ermöglicht.

Auch Tenside in der kontinuierlichen Phase beeinflussen die Koaleszenz. Sie führen in der Regel durch eine Erhöhung der Oberflächen-Gibbsenergie E_{Gibbs} zu einer Immobilisierung der Grenzflächen und damit zu einer längeren Drainagezeit^[127]. Man spricht von immobilen Oberflächen bereits bei einem hundertstel der maximalen Tensidsättigung an der Grenzfläche. Ein ähnliches Verhalten kann beobachtet werden, wenn die Viskosität der dispergierten Phase sehr hoch ist. Diese Zunahme der Gibbsenergie erklärt auch die in Abb. 2.17 gezeigten hohen Tropfenlebenszeiten für sehr kleine Tropfen, die sich u.a. beim Vorhandensein von hohen Tensidkonzentrationen leichter ausbilden. Innerhalb des Filmes treten beim Vorhandensein von Tensiden Verdünnungseffekte auf. Diese versucht das System durch Konvektion auszugleichen. Dieses Phänomen wird MARAGONI-Effekt genannt. Das Verhältnis der Tensidverteilung durch MARAGONI-Effekte zur Diffusion kann durch die Oberflächen-PECLET-Zahl beschrieben werden^[127]

$$Pe = \frac{S_p h}{\eta D} \quad (2.19)$$

mit S_p dem Verteilungsdruck der Tenside, h der Filmdicke, η der Viskosität und D dem Diffusionskoeffizienten.

Der MARAGONI Effekt verstärkt den Effekt der Ausbildung von Vertiefungen und begünstigt die erneute Ausbildung einer oszillierenden Oberfläche (vgl. Abb. 2.18). Tenside in der kontinuierlichen Phase führen somit zu einer Verlangsamung der Filmverdünnung.

2 Grundlagen

Tenside in der dispergierten Phase wirken durch schnelle Konvektion der Verdünnung so schnell entgegen, dass die mit Tensiden bedeckten Grenzflächen als reine Flüssigkeiten angesehen werden können.

Neben der Drainagezeit haben Tenside auch Einfluss auf die Stabilität des NB Films. Weitere Einflüsse sind die Tropfengeschwindigkeit und die VAN DER WAALS-Wechselwirkungen. Allgemein kann man sagen, dass bei einer niedrigen Pe -Zahl, einer niedrigen Tropfengeschwindigkeit und hohen van der Waals-Kräften die Drainagezeit abnimmt und der Tropfen in der Regel in der Mitte des Filmes aufbricht. Hingegen sorgen eine hohe Pe -Zahl, eine hohe Tropfengeschwindigkeit und niedrige VAN DER WAALS-Kräfte für eine schnellere Filmverdünnung und ein paralleles Ausrichten der Tropfenoberflächen. Mittlere Werte der oben genannten Parameter sorgen für einen Tropfenaufbruch am Rand des Films.

Bei hohen Tropfengeschwindigkeiten kann als weiterer Effekt die Ausbildung von Tropfen der kontinuierlichen Phase auftreten. Dies tritt von allem auf, wenn der Tropfenaufbruch am Rand des Filmes geschieht und die untere Wasserphase somit die Möglichkeit hat sich oberhalb der aufsteigenden Flüssigkeit zu treffen. Der Radius der sich ausbildenden Tropfen ist proportional zur Tropfengeschwindigkeit und antiproportional zu VAN DER WAALS-Wechselwirkungen^[128].

2.5.4 Koaleszenz und Sedimentation von Emulsionstropfen

Kommt es zu Koaleszenz- bzw. Sedimentationserscheinungen beim Vorhandensein mehrerer dispergierter Tropfen in einem Medium, z.B. in einer Emulsion, kann dies experimentell durch den Höhenunterschied der Grenzfläche in Abhängigkeit der Zeit untersucht werden^[129,130]. Dies ist schematisch in Abb. 2.19 dargestellt.

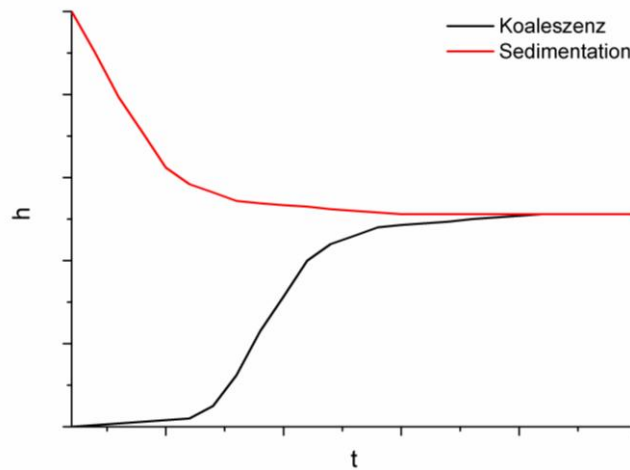


Abb. 2.19 Schematischer Verlauf der Höhenänderung der Grenzfläche in Abhängigkeit der Zeit für Sedimentations und Koaleszenzprozesse.

Die Geschwindigkeit der Sedimentation ist für einzelne Tropfen durch das Gesetz von STOKES gegeben

$$v_{Stokes} = \frac{\Delta\rho g d^2}{18\eta_c} \quad (2.20)$$

mit $\Delta\rho$ dem Dichteunterschied der beiden Phasen, g der Gravitationskonstante, d dem Tropfendurchmesser und η_c der Viskosität der kontinuierlichen Phase

In einer Emulsion kann es jedoch vorkommen, dass die Tropfen sich gegenseitig behindern oder sich zu größeren Agglomeraten zusammenschließen. Es kommt zu einer Abweichung von den nach Gleichung 2.20 berechneten Geschwindigkeiten. Die experimentell auftretende Sedimentationsgeschwindigkeit ist in Emulsionen mit einer niedrigen Tropfendichte abhängig vom Tropfenzusammenstoß, in Emulsionen mit einer hohen Tropfendichte von der Drainagezeit.

Weiterhin können zwei Mechanismen zur Beschreibung der zeitabhängigen Grenzflächenänderung herangezogen werden. Der erste Mechanismus, der häufig für Tropfen großen Radien auftritt, beschreibt, dass die Tropfen zunächst sedimentieren und oberhalb der Grenzfläche eine Sedimentationszone ausbilden, bevor sie koaleszieren. Die Koaleszenz läuft somit langsamer ab als die Sedimentation. Der zweite Mechanismus, der für Tropfen mit kleinen Radien verwendet wird, besagt, dass die Tropfen erst miteinander koaleszieren bevor sie sedimentieren und die Koaleszenz mit der unteren Phase so schnell abläuft, dass die Sedimentationszone immer eine konstante Höhe hat. In diesem Fall ist die Koaleszenz

2 Grundlagen

schneller als die Sedimentation. In der Literatur ^[131] finden sich beide Mechanismen, die abhängig sind vom Tropfenradius, dem Volumenanteil der dispergierten Phase, der Viskosität der kontinuierlichen Phase und der Zugabe von Tensiden. Wenn Tenside durch Koaleszenz von Tropfen miteinander oder mit der unteren Phase freigegeben werden, und damit eine Erhöhung der Tensidkonzentration in der kontinuierlichen Phase herbeiführen, kann es zu einer vermehrten Adsorption dieser Tenside an die restlichen dispergierten Tropfen kommen^[127]. Die Emulsionstropfen werden stabilisiert und die Koaleszenz der Tropfen miteinander wird verringert. Der Mechanismus kann sich im Verlauf des Experiments ändern.

2.6 Rheologie

Die Rheologie beschreibt das Deformations- und Fließverhalten unter mechanischer Belastung und damit das Deformations- und Fließverhalten von Materie^[132-134]. Sie dient zur Beschreibung der Wechselwirkungen in viskoelastischen Flüssigkeiten und Festkörpern. Es können z.B. die Verknüpfungsart in Gelnetzwerken oder die Molmassenverteilung von Polymeren bestimmt werden. Die Beanspruchung der Probe erfolgt dabei in der Scherrheologie (z.B. bei Rotationsrheometern) anders als bei einer Dehnung der Probe. Weiterhin können auch Normalkräfte senkrecht zur Scherkraft gemessen werden.

2.6.1 Das Zwei-Platten-Modell

Das Zwei-Platten-Modell nach NEWTON ist in Abb. 2.20 dargestellt.

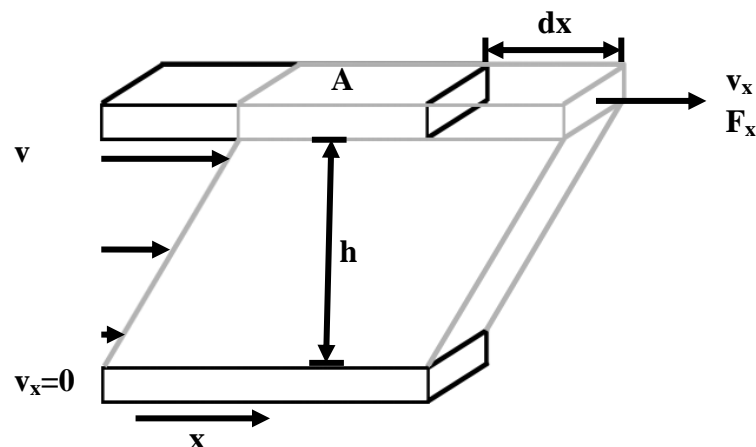


Abb. 2.20 Das Zwei-Platten-Modell der Rheologie.

Zwischen zwei Platten mit Abstand h und einer jeweiligen Fläche A befindet sich die zu untersuchende Probe, die eine Wandhaftung zu den Platten aufweist. Die obere Platte wird

2 Grundlagen

mit einer Kraft F und einer Geschwindigkeit v_x parallel zur anderen Platte bewegt. Es entsteht eine laminare Schichtenströmung in der Probe, deren Geschwindigkeit von der unteren zur oberen Platte von 0 zu einem Wert v_x ansteigt. Es können folgende scherrheologischen Größen definiert werden

$$\text{Deformation} \quad \gamma = dx/dh \quad (2.21)$$

$$\text{Scherrate} \quad \dot{\gamma} = v/h \quad (2.22)$$

$$\text{Schubspannung} \quad \tau = F/A \quad (2.23)$$

$$\text{Schermodul} \quad G = \tau/\gamma \quad (2.24)$$

$$\text{Scherviskosität} \quad \eta = \tau/\dot{\gamma} \quad (2.25)$$

2.6.2 Ideales Verhalten nach NEWTON und HOOKE

Das idealviskose Verhalten einer Flüssigkeit kann mit dem NEWTON'schen Gesetz beschrieben werden

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad (2.26)$$

Es kann durch ein Dämpferelement beschrieben werden, welches aus einem Kolben in einer Flüssigkeit besteht (Abb. 2.21).

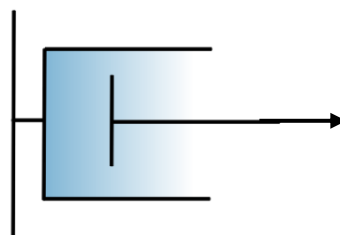


Abb. 2.21 Dämpferelement nach NEWTON.

Bei Anlegen einer Belastung wird der Kolben in der Flüssigkeit bewegt. Die Geschwindigkeit ist dabei proportional zur eingesetzten Kraft mit einem Faktor, der durch den Fließwiderstandes der Flüssigkeit gegeben ist. Bei einer Entlastung bewegt sich der Kolben nicht zurück. Die Deformation ist irreversibel und die gesamte Deformationsenergie wurde in

2 Grundlagen

Deformationsarbeit umgesetzt. Dieses idealviskose Verhalten tritt bei Flüssigkeiten auf, die keine Wechselwirkungen zwischen den Molekülen aufweisen.

Das idealelastische Verhalten eines Festkörpers kann mit dem HOOKE'schen Gesetz beschrieben werden

$$\tau = G\gamma \quad (2.27)$$

Es kann durch ein Federelement dargestellt werden (Abb. 2.22).

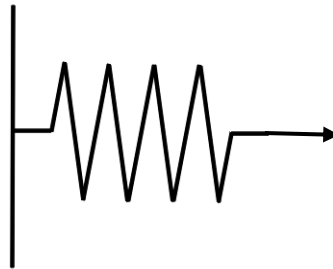


Abb. 2.22 Federelement nach HOOKE.

Bei Belastung tritt eine sofortige Verformung auf, die sich bei konstanter Kraft nicht weiter ändert. Die Verformung ist proportional zur eingesetzten Kraft mit der Federkonstante als Proportionalitätsfaktor. Bei Entlastung nimmt die Feder ihre ursprüngliche Form an. Die Deformation ist reversibel und die eingebrachte Energie bleibt bei Belastung in der Feder gespeichert.

2.6.3 Viskoelastisches Verhalten von Flüssigkeiten nach MAXWELL

Zur Beschreibung des Verhaltens von viskoelastischen Flüssigkeiten wird ein Modell von MAXWELL herangezogen (Abb. 2.23).

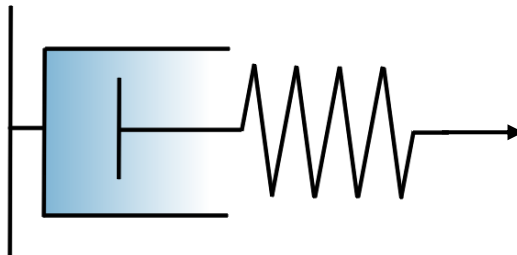


Abb. 2.23 MAXWELL-Modell zur Beschreibung viskoelastischer Flüssigkeiten.

2 Grundlagen

Hierbei werden ein Dämpfer und eine Feder in Reihe geschaltet. Bei anlegen einer Belastung erfährt zunächst die Feder eine komplette Auslenkung. Der Dämpfer folgt zeitverzögert. Bei einer Entlastung erfolgt einer Rückstellung der Feder, während der Dämpfer weiter ausgelenkt und in seiner Deformation bleibt. Unter der Voraussetzung, dass für beide Elemente die gleiche Schubspannung gilt, ergibt sich durch Addition folgende Differenzialgleichung

$$\dot{\gamma} = \frac{\dot{\tau}}{G} + \frac{\tau}{\eta} \quad (2.28)$$

Diese Gleichung gilt für viskoelastische Flüssigkeiten, deren Wechselwirkungen hauptsächlich durch mechanische Verschlaufungen auftreten.

2.6.4 Viskoelastisches Verhalten von Festkörpern nach KELVIN und VOIGT.

Zur Beschreibung des Verhaltens von viskoelastischen Festkörpern wird ein Modell von KELVIN und VOIGT herangezogen (Abb. 2.24).

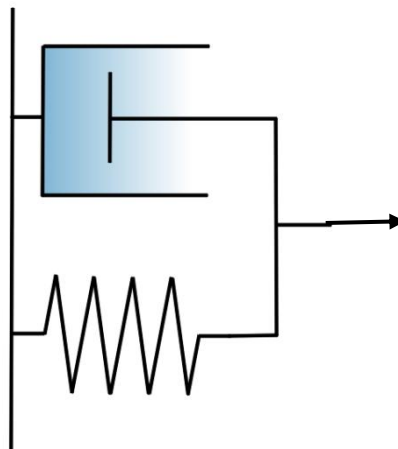


Abb. 2.24 KELVIN-VOIGT-Modell zur Beschreibung viskoelastischer Festkörper.

Bei diesem sind ein Dämpfer und eine Feder parallel geschaltet, so dass sich in diesem Fall durch Addition

$$\tau = \eta\dot{\gamma} + G\gamma \quad (2.29)$$

ergibt. Feder- und Dämpferelement können nur gemeinsam auf eine Belastung reagieren. Es stellt sich eine verlangsamte, aber stetige Deformation unter Krafteinwirkung ein, die als exponentielle-Funktion beschrieben werden kann. Eine Entlastung wirkt entgegen gesetzt und

2 Grundlagen

die in der Feder gespeicherte Energie (analog zur ihrer Federkonstante) bewirkt eine zeitlich verzögerte Rückdeformation. Der Energieeintrag in den Dämpfer wird jedoch dissipiert, so dass eine komplette Rückstellung nicht möglich ist.

Für Materie mit höheren elastischen bzw. viskosen Anteilen gibt es komplexere Modelle, die aus einer Zusammenstellung des Dämpfer- und Federmodells bestehen.

2.6.5 Speicher- und Verlustmodul

Um die elastischen und viskosen Module einer Probe zu bestimmen, wird diese einer periodisch oszillierenden Beanspruchung ausgesetzt. Dabei gilt für eine Cosinus-förmige Deformation einer idealelastischen Probe folgender Schubspannungsverlauf

$$\tau = G\gamma_0 \cos(\omega t + \delta) \quad (2.30)$$

mit γ_0 der Deformationsamplitude, ω der Kreisfrequenz und δ der Phasenverschiebung (bei idealelastischen Probe = 0).

Der Verlauf zeigt im Vergleich zur angelegten Deformation bei idealelastischem Verhalten keine Verschiebung und bei idealviskosem Verhalten eine Verschiebung um $-\pi/2$. Für viskoelastisches Verhalten ist die Phasenverschiebung im Bereich von $-\pi/2 < \delta < 0$. Die folgende Abb. 2.25 veranschaulicht den Verlauf.

2 Grundlagen

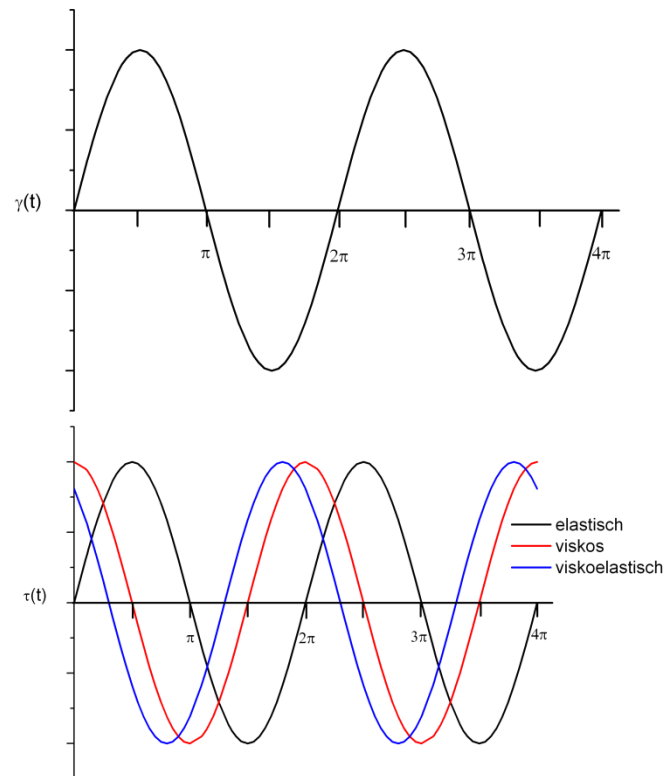


Abb. 2.25 a) Sinusförmige Vorgabe-Funktion mit γ -Regelung, b) Antwort-Funktion als τ -Kurve: die schwarze Kurve gibt die Antwort-Funktion eines ideal elastischen Stoffes wieder, $\delta = 0$; die rote Kurve gibt die Antwort-Funktion eines ideal viskosen Stoffes wieder, $\delta = -\pi/2$; die blaue Kurve gibt die Antwort-Funktion eines viskoelastischen Stoffes wieder, $-\pi/2 < \delta < 0$.

Das Verhältnis des komplexen Schubspannungsverlauf und des komplexen Deformationsverlaufes wird komplexes Schubmodul genannt und ist definiert als

$$G^* = \frac{\tau^*}{\gamma^*} = \frac{\tau_0}{\gamma_0} e^{i\delta} \quad (2.31)$$

Es kann in einen Real- und Imaginärteil aufgeteilt werden

$$G^* = G' + iG'' \quad (2.32)$$

Der Realteil entspricht dem elastischen Anteil und damit der reversiblen Deformationsenergie. Es wird auch Speichermodul G' genannt. Der Imaginärteil entspricht dem viskosen Anteil und wird Verlustmodul G'' genannt.

Die komplexe Viskosität lässt sich beschreiben als

$$\eta^* = \frac{\tau^*}{\dot{\gamma}^*} = \frac{\tau_0}{\dot{\gamma}_0} e^{i\delta} \quad (2.33)$$

2 Grundlagen

Auch sie kann in einen Real- und einen Imaginärteil aufgeteilt werden.

Der elastische Anteil einer Probe wird wiedergegeben durch G' bzw. η'' , der viskose durch G'' bzw. η' . Das Verhältnis von Verlust- und Speichermodul wird Verlustfaktor f_v genannt und ist definiert als

$$f_v = \frac{G''}{G'} = \frac{\eta'}{\eta''} = \tan \delta \quad (2.34)$$

3 Methoden

Im folgenden Kapitel sollen die für diese Arbeit verwendeten Methoden näher dargestellt werden.

3.1 Charakterisierung von Grenzflächenfilmen

3.1.1 Pendant Drop

Die Methode des hängenden Tropfens dient zur Bestimmung von Ober- und Grenzflächenspannungen^[135-140]. Dies erfolgt durch die axisymmetrische Tropfenkontur, die abhängig ist von der Gravitationskraft und damit dem Gewicht des Tropfens und der Ober- oder Grenzflächenspannung. Beide Kräfte (Gravitationskraft und Ober- oder Grenzflächenspannung) wirken dabei einander entgegen. Unter Berücksichtigung des Dichteunterschiedes der beiden Phasen (z.B. Luft/ Wasser oder Lösungsmittel/ Wasser) und unter Annahme eines hydrodynamischen Gleichgewichtes, kann ein Zusammenhang zwischen der Ober- bzw. Grenzflächenspannung und der Kontur des hängenden Tropfens bestimmt werden. In Abb. 3.1 ist eine typische Tropfenkontur schematisch dargestellt.

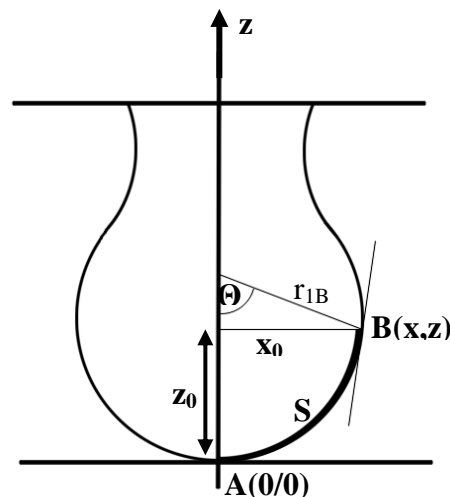


Abb. 3.1 Schematische Darstellung einer Tropfenkontur bei der Methode des hängenden Tropfens.

Die Bestimmung der Ober- bzw. Grenzflächenspannung erfolgt durch den Druckvergleich an 2 Punkten des Tropfens, gegeben als

$$\Delta p = \Delta \rho g z_0 \quad (3.1)$$

3 Methoden

mit $\Delta\rho$ dem Dichteunterschied der beiden Phasen, g der Gravitationskonstante und z_0 dem Abstand eines Druckpunktes zur Tropfenspitze (B(x, z) 2. Druckpunkt).

Weiterhin gilt für den hängenden Tropfen nach LAPLACE

$$\Delta p = \gamma \left(\frac{1}{r_{1B}} + \frac{1}{r_{2B}} - \frac{2}{r_A} \right) \quad (3.2)$$

mit γ der Grenzflächenspannung und r_x den jeweiligen Krümmungsradien. Es wird berücksichtigt, dass die Krümmung am zweiten Druckpunkt, der Tropfenspitze identisch ist.

Somit ergibt sich aus Gleichung 3.1 und 3.2 folgender Zusammenhang

$$\Delta\rho g z = \gamma \left(\frac{1}{r_{1B}} + \frac{1}{r_{2B}} - \frac{2}{r_A} \right) \quad (3.3)$$

Die zur Auswertung benötigten Parameter werden durch ein computergestütztes Profil zeitabhängig ermittelt, welches an das Tropfenprofil angepasst wird^[141].

Aufbau der Apparatur

Der Aufbau der zur Durchführung der Versuche verwendeten Apparatur OCA 20 von Dataphysics Instruments GmbH ist in Abb. 3.2 dargestellt. Sie besteht aus einer Lichtquelle, einem Tisch, einer Dosiereinrichtung und einer CCD-Kamera mit einer Bildwiederholungsrate von 360 Bildern/ Sekunde.

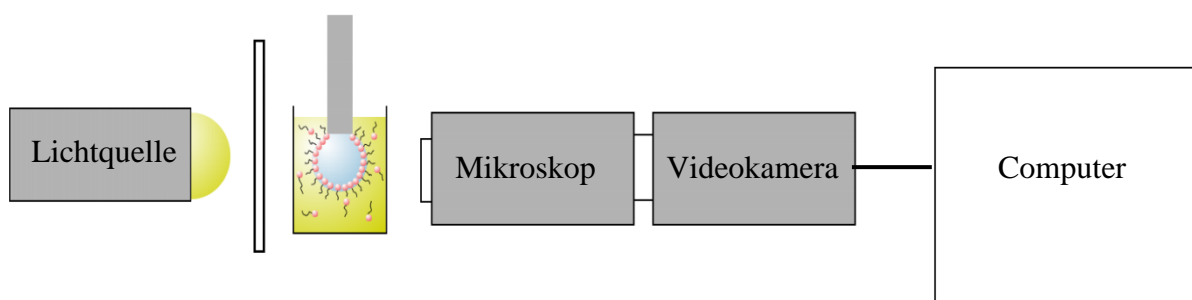


Abb. 3.2 Schematischer Aufbau der Pendant-Drop Apparatur.

3.1.2 Spinning Drop

Die Methode des rotierenden Tropfens dient ebenfalls zur Bestimmung der Grenzflächenspannung. Sie ist eine quasidynamische Methode mit der es möglich ist

3 Methoden

Grenzflächenspannung bis zu einem Bereich von 10^{-6} mN m⁻¹ zu bestimmen. Ein Tropfen wird hierbei in eine Kapillare eingetragen, die mit einer Flüssigkeit höherer Dichte wie z.B. Wasser gefüllt ist. Wird eine äußere Zentrifugalkraft durch einfache Rotation bei 500 – 10 000 rpm der Kapillare angelegt, stabilisiert sich der Tropfen in der Längsachse der Kapillare wie in Abb. 3.3 gezeigt ist^[142-147].

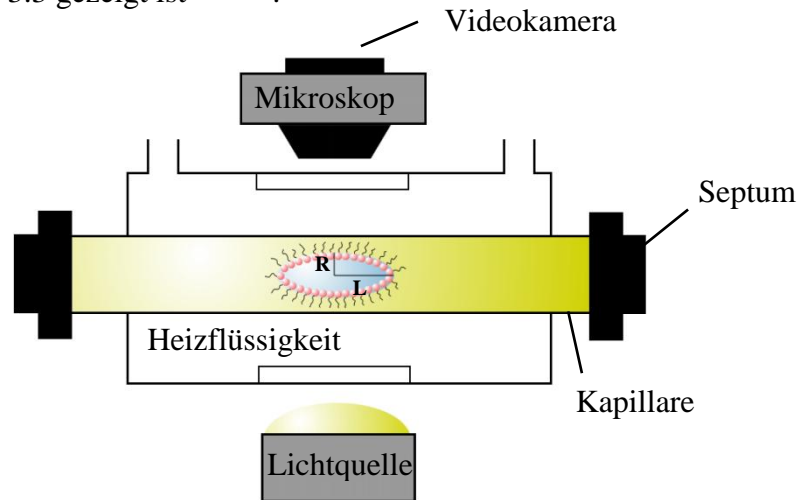


Abb. 3.3 Schematische Darstellung der Spinning-Drop Apparatur.

Die Zentrifugalkraft und die Grenzflächenspannung kompensieren sich gegeneinander, so dass ein Tropfen mit minimaler Oberfläche entsteht. Unter der Annahme, dass die Gravitationskraft aufgrund der höheren Zentrifugalkraft vernachlässigt werden kann, kann die Grenzflächenspannung direkt durch eine Analyse der Tropfenform berechnet werden. Der Beitrag der Grenzflächenspannung zur Energie des Tropfens ist gegeben als

$$E_s = \gamma(2\pi RL + 4\pi R^2) \quad (3.4)$$

mit γ der Grenzflächenspannung und R bzw. L den Längsachsen des Tropfens wie in Abb. 3.3 gekennzeichnet. Hierbei wird angenommen, dass der Tropfen eine zylindrische Form annimmt. Die Energie des Tropfens bedingt durch die Rotation ist gegeben als

$$E_r = \int p dV = \frac{1}{4} \pi (\rho_1 - \rho_2) \omega^2 L R^4 + \frac{4}{15} \pi (\rho_1 - \rho_2) \omega^2 R^5 \quad (3.5)$$

mit p der Druckdifferenz, V dem Tropfenvolumen, ρ dem inneren bzw. äußeren Druck und ω der Winkelgeschwindigkeit. Nach Summation und anschließender Differenzierung nach R erhält man für den Gleichgewichtsfall, also für die minimale Energie, folgenden Ausdruck für die Grenzflächenspannung

$$\gamma = \frac{(\rho_1 - \rho_2)\omega^2 R^3}{4} \left(1 + \frac{2R}{3L}\right) \quad (3.6)$$

Für einen Zylinder gilt $L \gg R$. Der eingeklammerte Term wird somit sehr klein und kann unberücksichtigt bleiben. Die Grenzflächenspannung ist nur noch von der Dichtedifferenz, der Rotationsgeschwindigkeit und der kleineren Längsachse des Tropfens abhängig. Messungen für diese Arbeit wurden mit der Apparatur SVT 20 von Dataphysics Instruments GmbH durchgeführt.

3.1.3 Ringmethode nach DE NOÛY und Vertikalplattenmethode nach WILHELMY

Als weitere Methoden zur Bestimmung der Ober- und Grenzflächenspannung können die Ringmethode nach DE NOÛY und die Vertikalplattenmethode nach WILHELMY^[15,148] angewendet werden. Im Gegensatz zu den dynamischen Methoden „Pendant und Spinning Drop“ beruhen die Ring- und die Vertikalplattenmethode auf einer Oberflächenvergrößerung und dienen zur Messung der statischen Kräfte. Sie werden daher als statische Methoden betrachtet. Bei der Ringmethode wird die Kraft an einem Draht ring gemessen, der in eine Flüssigkeit taucht und aus dieser herausgezogen wird (Abb. 3.4).

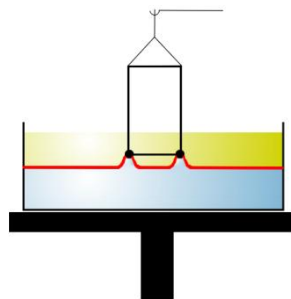


Abb. 3.4 Schematische Darstellung der Ringmethode nach DE NOÛY.

Der Ringkörper hat einen definierten Umfang und muss vollständig von der Flüssigkeit benetzt sein. Die Kraft wird meist an einer Elektrowaage gemessen. Der sich ausbildende Flüssigkeitskragen resultiert aus dem hydrostatischen Gewicht der Flüssigkeit unterhalb des Ringes und der Oberflächenspannung bezogen auf die Benetzungslinie. Somit wirkt eine maximale Kraft, wenn die Tangente am Benetzungspunkt senkrecht verläuft. Wird der Ring weiter angehoben, reißt die Flüssigkeitslamelle. Für die Oberflächenspannung gilt

3 Methoden

$$\sigma = \frac{K_m - K_v}{L \cos \alpha_C} \quad (3.7)$$

mit K_m der maximal gemessenen Kraft, K_v dem Kraftanteil, der sich durch das Flüssigkeitsvolumen unter dem Ring ergibt, L der benetzten Länge und α_C der Kontaktwinkel. Diese Methode eignet sich gut für reine Lösungen und Oberflächenspannungen $\sigma > 1 \text{ mN m}^{-1}$. Tensidlösungen weisen oft ein anderes Benetzungsverhalten auf und sind somit nur bedingt geeignet. Für Tensidlösungen ist die WILHELMY Platte eine geeignetere Methode.

Bei der Vertikalplattenmethode nach WILHELMY erfolgt ebenfalls eine Kraftmessung. Die Kraft wird an einem Glas- oder Platinplättchen, die in das Probenvolumen eingetaucht ist, gemessen (Abb. 3.5).

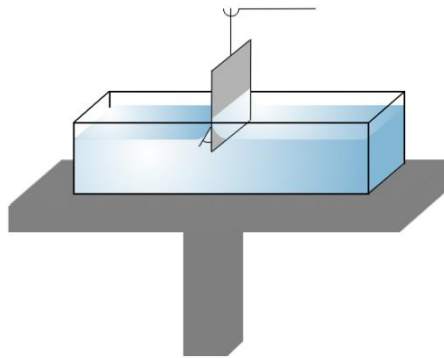


Abb. 3.5 Schematische Darstellung der Vertikalplattenmethode nach WILHELMY.

Die Unterkante des Plättchens wird in Kontakt mit der Ober- oder Grenzfläche gebracht, so dass die Flüssigkeit am Plättchen hochspreitet. Die Steighöhe ist abhängig vom Kontaktwinkel. Es gilt unter Berücksichtigung der Masse des Plättchens für die Oberflächenspannung folgender Zusammenhang:

$$\sigma = \frac{K_\sigma}{U \cos \alpha_C} \quad (3.8)$$

mit K_σ der gemessenen Kraft, U dem Umfang des Plättchens und α_C dem Kontaktwinkel unter der Voraussetzung, dass keine vollständige Benetzung vorliegt. Wird die Grenzflächenspannung gemessen, ist eine Auftriebskorrektur nötig. Häufig werden zur Vereinfachung angeraute Platinplättchen verwendet, wodurch der Kontaktwinkel auf Null gesetzt werden kann. Häufige Anwendung findet diese Methode bei Messungen des

3 Methoden

Oberflächendrucks von π/A -Isothermen (siehe Abb. 2.3). Das in dieser Arbeit verwendete Gerät ist das Prozess Tensiometer K12 der Firma Krüss.

3.1.4 Torsionspendel

Mit Hilfe eines Torsionspendels (Interfacial Shear Rheometer, ISR der Firma Sinterface Technologies) können sehr niedrige Oberflächenviskositäten (bis $1 \mu\text{Ns/m}$) genau gemessen werden ^[149,150]. Die Messmethode beruht auf der Dämpfung einer Torsionsschwingung durch eine Messgeometrie in der Grenzfläche des zu untersuchenden Systems. Ein schematischer Aufbau ist in Abb. 3.6 zu sehen.

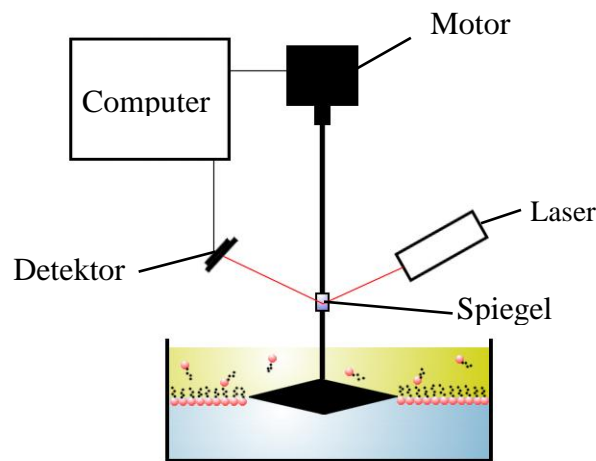


Abb. 3.6 Schematische Darstellung des Torsionspendels.

Eine bikonische Messgeometrie wird in die Grenzschicht positioniert. Sie ist durch einen dünnen Draht mit einem Schrittmotor verbunden. Dieser ermöglicht einer Auslenkung der Geometrie um $0.5\text{-}3^\circ$, was im Folgenden zu einer Schwingung des Kegels führt. Durch die Viskosität des Films an der Grenzfläche wird diese Schwingung gedämpft. Dies wird durch einen Laser, der mit Hilfe eines Spiegels auf einen Photodetektor gelenkt wird, detektiert. Die Dämpfung kann durch folgende Gleichung beschrieben werden

$$\gamma(t) = \gamma_0 \exp\left(-\frac{t}{a}\right) \sin(\omega(t - t_0)) + c \quad (3.9)$$

mit γ_0 der Schwingungsamplitude, a der Abklingzeit, ω der Schwingungsfrequenz, t_0 der Phasenverzögerung und c einem Offset-Wert.

3 Methoden

Setzt man $\alpha = \alpha^{-1}$, $\beta = \omega$ und $\varphi = t_0$, so erhält man

$$\gamma(t) = \gamma_0 \exp(-\alpha t) \sin(\beta t - \varphi) + c \quad (3.10)$$

Durch Anpassen der Messkurve erhält man die Parameter α und β . Mit diesen Parametern können die Scherviskosität η_s (Gleichung (3.11)) und die Scherelastizität G_s (Gleichung (3.12)) werden.

$$\alpha = \frac{F_r + \frac{\eta_s}{H_s}}{2I_r} \quad (3.11)$$

$$\beta = \sqrt{\frac{E_r + \frac{G_s}{H_s}}{I_r} - \alpha^2} \quad (3.12)$$

Die Konstanten F_r (Reibungskraft der reinen Lösungsoberfläche), H_s (Apparatekonstante), E_r (Elastizität des Torsionsdrahtes) und I_r (Trägheitsmoment) ergeben sich dabei aus der Messgeometrie oder können durch Kalibriermessungen bestimmt werden.

Ist die Ober- bzw. Grenzflächenviskosität zu hoch, erhält man eine Kriechkurve aus der die Scherelastizität und die Scherviskosität nur noch gemeinsam bestimmbar sind.

3.1.5 π/A -Isothermen und Oberflächenpotential

Zur Messung der in Abschnitt 2.2 beschriebenen π/A -Isothermen wird ein LANGMUIR-Trog (NIMA-Technology, England, Typ 611) verwendet (Abb. 3.7).

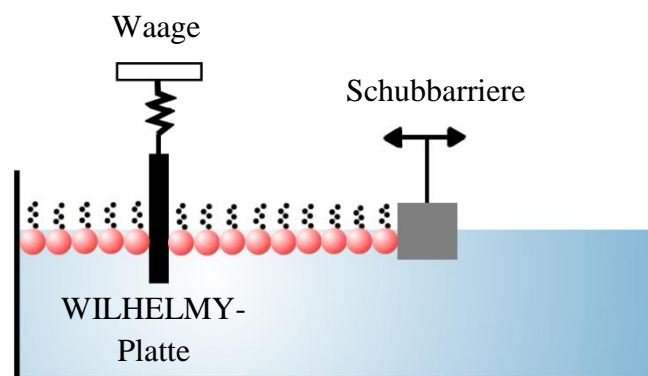


Abb. 3.7 Schematische Darstellung des Langmuir-Trogs.

3 Methoden

Die Lösung oder der Kristall eines schwerlöslichen Tensids wird auf die Flüssigkeitsoberfläche aufgebracht. Über eine Wilhelmy-Waage wird der Oberflächendruck gemessen, während über eine Schubbarriere die Fläche komprimiert werden kann. Spreitet das Tensid nicht oder nur sehr langsam, kann es in einem leicht flüchtigen Lösungsmittel mit guten Spreitungseigenschaften gelöst und so auf die Oberfläche aufgebracht werden. In diesem Fall ist es notwendig zu warten, bis das Lösungsmittel verdunstet ist, bevor gemessen wird.

Zur weiteren Charakterisierung von Ober- oder Grenzflächenfilmen kann das Oberflächenpotential^[151-153] gemessen werden. Es gilt nach der HELMHOLTZ-Gleichung

$$\Delta V = \frac{n\bar{\mu}}{\epsilon_0 \epsilon_M} \quad (3.13)$$

mit n der Moleküldichte, μ der Normalkomponente des Dipolmomentes pro Molekül, ϵ_0 der Dielektrizitätskonstante im Vakuum und ϵ_M der Dielektrizitätskonstante des Mediums.

Da auch pures Wasser ein Oberflächenpotential besitzt, wird ΔV als Potentialänderung bezogen auf die filmfreie Oberfläche definiert. Da weder μ noch ϵ_M direkt gemessen werden können, wird ein effektives Dipolmoment angenommen und es gilt

$$\Delta V = \frac{\mu}{\epsilon_0 A} \quad (3.14)$$

mit μ dem effektiven Dipolmoment und A der Oberfläche der Flüssigkeit.

Das Oberflächenpotential ist abhängig von der Anzahl der Moleküle pro Fläche, der Orientierung der Dipolmomente, der Hydratisierung der Kopfgruppe, den ionischen Zusätzen zur Flüssigkeit und dem pH-Wert. Gemessen wird es mit Hilfe eines Schwingkondensators (NFT, Kelvin Probe SP1)^[154] wie es in Abb. 3.8 zu sehen ist.

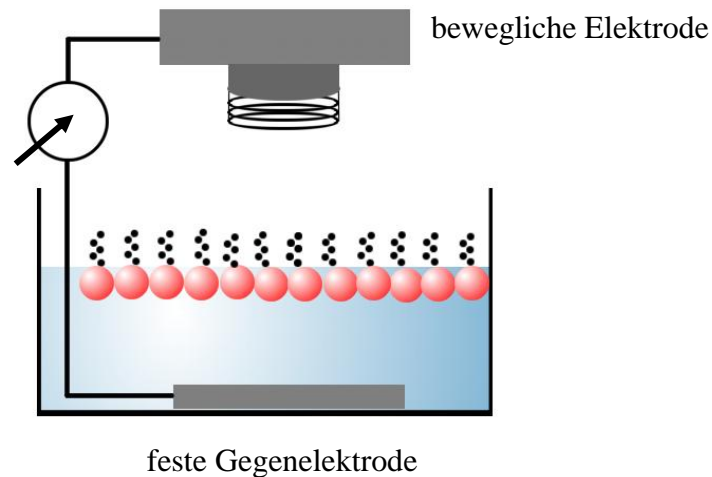


Abb. 3.8 Schematische Darstellung des Schwingplattenkondensators zur Messung des Oberflächenpotentials.

Der Schwingplattenkopf besteht aus einer Metallplatte als Gegenelektrode und einer schwingenden Platinplatte als Elektrode. Beide Platten bilden somit einen Kondensator. Durch die Schwingung der Platte wird ein Strom erzeugt. Die Kapazitätsänderung eines Mediums ist hierbei proportional zu dessen mittlerer Polarisierbarkeit und somit zu dessen Dipolmoment. Die gemessene Spannung entspricht damit dem Oberflächenpotential. Durch die Ringelektronik wird zusätzlich eine vorzeicheninvertierte Gegenspannung auf die unbewegliche Platte gegeben um einen feldfreien Zwischenraum im Kondensator zu gewährleisten. Diese Gegenspannung ist das eigentliche Messsignal.

3.2 Bestimmung von Partikelgrößen

3.2.1 Statische Lichtstreuung

Für die statische Lichtstreuung werden Theorien von RAYLEIGH, EINSTEIN/SMOLUCHOWSKI und MIE zugrunde gelegt^[15,155]. Sie unterscheiden sich in der betrachteten Partikelgröße und dem Partikelverhalten.

Trifft eine linear polarisierte, elektromagnetische Welle auf ein Molekül induziert es eine Schwingung der Elektronen und damit einen Dipolmoment. Dieser hängt von der Polarisierbarkeit α des Moleküls ab. Um eine gleichbleibende Amplitude dieser Schwingung zu gewährleisten, wird die eingetragene Energie der Welle als Licht wieder abgegeben. Dieses wird experimentell an einer Einheitsfläche detektiert. Die Lichtintensität ist somit

3 Methoden

proportional zur vom Molekül abgestrahlten, quadratischen Feldstärke. Daher gilt für das Verhältnis von Streuintensität zu eingestrahlttem Licht

$$\frac{I_s}{I_0} = \frac{16\pi^4 \alpha^2 \nu^4}{c^4 r^2} = \frac{16\pi^4 \alpha^2}{\lambda^4 r^2} \quad (3.15)$$

mit ν Frequenz der Lichtwelle, c Lichtgeschwindigkeit, r Detektionsabstand, λ Wellenlänge.

In Lösungen fluktuiert die Polarisierbarkeit der Moleküle und es gilt nach CLAUSIUS-MOSOTTI

$$n^2 - n_0^2 = 4\pi N \alpha \quad (3.16)$$

mit n_0 Brechungsindex des Lösungsmittels, N Teilchenkonzentration ($N = c \cdot N_L / M$); M Molmasse.

Durch Umstellen und Einsetzen in Gleichung (3.15) und unter Berücksichtigung des Brechungs-indexinkrement erhält man

$$\frac{I_s}{I_0} = \frac{4\pi^2 n_0^2}{N_L \lambda^4 r^2} \left(\frac{\partial n}{\partial c} \right)^2 c M \quad (3.17)$$

Für größere Partikel (bestehend aus mehreren Moleküleinheiten) können die Dipolmomente nicht mehr einzeln betrachtet werden und es wird ein Teilchenstrefaktor $P(q)$ eingeführt

$$\frac{I_s}{I_0} = \frac{4\pi^2 n_0^2}{N_L \lambda^4 r^2} \left(\frac{\partial n}{\partial c} \right)^2 c M P(q) \quad (3.18)$$

Der Streuvektor q ist gegeben als

$$q = 4\pi\lambda \sin(\Theta/2) \quad (3.19)$$

wobei Θ dem Winkel entspricht.

Der Verlauf des Verhältnisses der gemittelten Streuintensitäten gegen den Streuvektor und Partikelradius qR ist in Abb. 3.9 wiedergegeben.

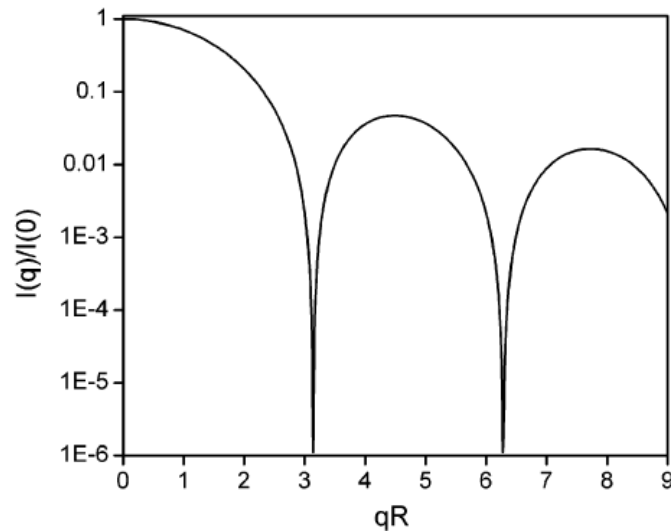


Abb. 3.9 Verlauf der gemittelten Streuintensitäten gegen qR ^[156].

Die Steigung und das 1. Streuminimum geben Hinweise auf die Partikelgröße. Wird im Bereich von $qR < 1$ gemessen, kann für den Teilchenstrefaktor $P(q)$ folgende Näherung verwendet werden

$$\lim_{\theta \rightarrow 0} P(q) = 1 - \frac{q^2 R_G^2}{3} \quad (3.20)$$

mit R_G Gyration- oder Trägheitsradius.

Zur Vereinfachung des linken Terms von Gl. (3.19) $q = 4\pi\lambda \sin(\Theta/2)$

(3.19) wird das RAYLEIGH-Verhältnis definiert als

$$R_\Theta = KcM(2\sin^2 \Theta) \quad (3.21)$$

Hierbei ist K eine Konstante, die u.a. die Wellenlänge, die AVOGADRO-Konstante und das Brechungsindexinkrement beinhaltet.

Es ergibt sich unter Berücksichtigung des Teilchenstrefaktors $P(q)$

$$\lim_{\theta \rightarrow 0} \frac{Kc}{R_\Theta} = \frac{1}{M} \left(1 + \frac{q^2 R_G^2}{3} \right) = \frac{1}{M} \left(1 + \frac{16\pi^2 R_G^2 \sin^2(\theta/2)}{3\lambda^2} \right) \quad (3.22)$$

Bei Messungen nach ZIMM ^[157,158] werden die Streuintensitäten von mindestens drei Konzentrationen bei mindestens drei Winkeln gemessen um eine Abweichung einer ideal-

3 Methoden

sphärischen Kugel zu erfassen und $\frac{Kc}{R_\theta}$ gegen $\sin^2(\theta/2)+bc$ aufgetragen, wobei b eine willkürlich gewählte Konstante ist, die zur besseren Darstellung des Graphen dient. Ein sogenannter Zimm-Plot ist in Abb. 3.10 dargestellt.

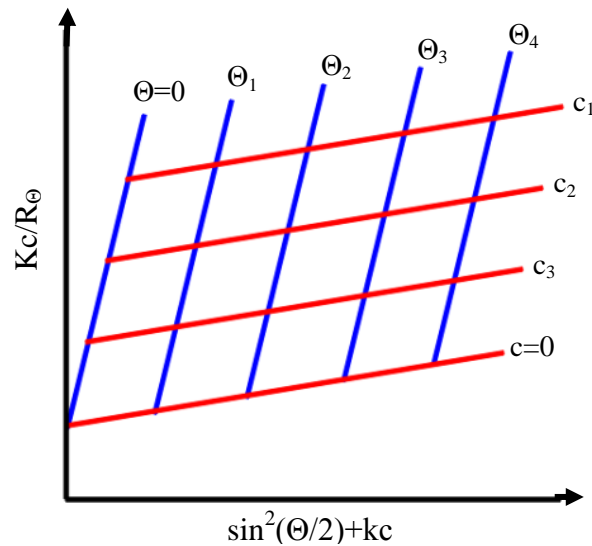


Abb. 3.10 Schematischer Verlauf eines Zimm-Plots.

Durch Extrapolation der Winkel gegen 0 erhält man aus der Steigung dieser Geraden den 2. Virialkoeffizienten, durch Extrapolation der Konzentrationen gegen 0 erhält man aus der Steigung dieser Geraden den Trägheitsradius und aus dem Ordinatenabschnitt kann die Molmasse bestimmt werden.

Für Partikelgrößen $d > 100$ nm ergibt sich für die obige Auftragung keine lineare Abhängigkeit mehr. Es wird in diesem Fall die Auswertung nach BERRY^[159] durchgeführt,

bei der $\sqrt{\frac{Kc}{R_\theta}}$ gegen $\sin^2(\theta/2)+bc$ aufgetragen wird. Man erhält ebenfalls, wie für den

ZIMM-Plot beschrieben, den 2. Virialkoeffizienten, den Trägheitsradius und die Molmasse.

Dies gilt nur, unter der Bedingung, dass die Partikel keine Wechselwirkungen untereinander zeigen, d.h. die Teilchen keine Nahordnung besitzen. Tritt dieser Fall ein, muss ein Strukturfaktor als weiterer Faktor eingeführt werden. Er ist gegeben als

$$S(q) = 1 + 4\pi\rho \int_0^\infty [r^2 g(r) - 1] \frac{\sin(qr)}{(qr)} dr \quad (3.23)$$

mit ρ der Teilchendichte und $[g(r)-1]$ der relativen Abweichung von der durchschnittlichen Teilchendichte im Abstand r vom Mittelpunkt eines gegebenen Teilchens. Er berücksichtigt die Abweichung vom idealen Verhalten.

3.2.2 Dynamische Lichtstreuung

Die dynamische Lichtstreuung dient zur Bestimmung von Partikelgrößenverteilungen [15,160,156,161]. Es wird die Geschwindigkeit der Brown'schen Molekularbewegung von Partikeln in einer Lösung gemessen und daraus deren Partikelgröße (bis 1 μm) bestimmt. Aus der Brown'schen Molekularbewegung wird der translatorische Diffusionskoeffizient ermittelt und mit Hilfe der STOKES-EINSTEIN-Gleichung (3.24) der hydrodynamische Radius berechnet:

$$d_h = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (3.24)$$

mit d_h dem hydrodynamischen Durchmesser, k der Boltzmann-Konstante, T der Temperatur in Kelvin, η der Viskosität und D dem Diffusionskoeffizienten.

Bei Bestrahlung einer kolloidalen Lösung mit monochromatischem Licht tritt ein Doppler-Effekt bei der Lichtstreuung auf. Die Frequenzverschiebung bewegt sich für die thermische Bewegung von kleinen Partikeln nur in einem Bereich von 10-1000 Hz möglich. Da sie im Vergleich zur Frequenz des eingestrahnten monochromatischen Lichtes sehr gering ist, wird eine Fourier-Transformation zu Grund gelegt. Es wird die Streuintensität bei einem bestimmten Winkel (in der Regel 90° oder $170-180^\circ$) gemessen, wobei Teilchen mit einer Größe kleiner als $1/10$ der Wellenlänge des Lichtes ein isotropes (winkelunabhängiges) Streuverhalten aufweisen. Bei einem stationären System kann das resultierende Streubild als Speckle-Muster von konstruktiver und destruktiver Interferenz aufgefasst werden. Da es sich bei den untersuchten Lösungen um dynamische Systeme handelt, werden Intensitätsfluktuationen aufgezeichnet (Abb. 3.11).

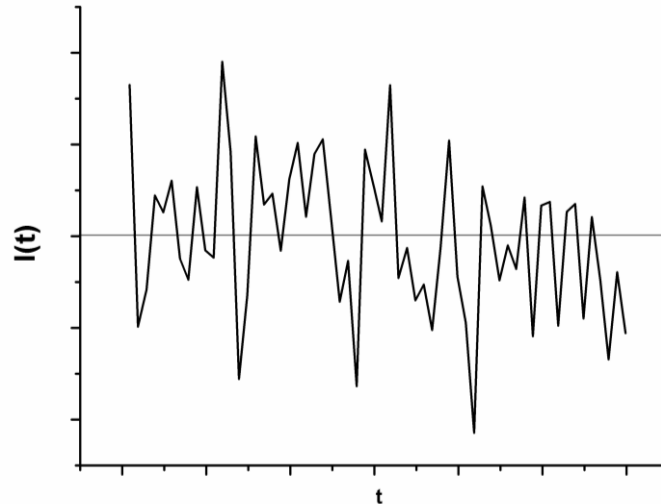


Abb. 3.11 Beispiel des Verlaufs der Intensitätsfluktuationen aufgrund der Brown'schen Molekularbewegung der streuenden Teilchen.

Die Zeitabhängigkeit einer Intensität zum Zeitpunkt t , die um einen mittleren Wert $I(t)$ schwankt, kann dabei als Ensemblemittel wiedergegeben werden:

$$\langle I(t) \rangle = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T I(t) dt \quad (3.25)$$

Es werden die Intensitäten zum Zeitpunkt t mit Intensitäten zum Zeitpunkt $t+\tau$ miteinander verglichen. Wird der Zeitraum τ dabei klein genug gewählt ($ns-\mu s$), kann ein Intensitätsunterschied berechnet werden und es ergibt sich folgende Zeit-Korrelationsfunktion:

$$\langle I(t) \cdot I(t + \tau) \rangle = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T I(t) I(t + \tau) dt \quad (3.26)$$

Ein Beispiel für einen daraus resultierenden Graphen, ist in der Abb. 3.12 zu sehen.

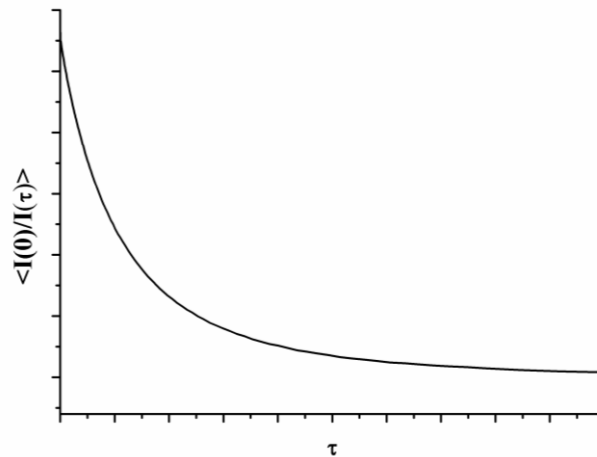


Abb. 3.12 Beispiel für den Verlauf der Autokorrelationsfunktion.

Dieser Graph kann durch einen exponentiellen Ablauf beschrieben werden. Dabei muss zwischen den verschiedenen Verläufen des Graphen (monodispers bzw. mit mehreren Relaxationen) unterschieden werden:

$$G(\tau) = A[1 + Be^{-2Dq^2\tau}] \quad (3.27)$$

mit A der Basislinie, B der Amplitude, D dem Diffusionskoeffizienten, q der Streuvektor $q = (4\pi n / \lambda_0) \sin(\theta/2)$, n dem Brechungsindex, λ_0 der Wellenlänge des Lasers und θ dem Messwinkel.

Die Auswertung dieser Funktionen erfolgt über verschiedenen Algorithmen, z. B. die Kumulanten-Analyse^[162], die Contin-Analyse^[163] oder die NNLS-Analyse^[164].

Bei der Kumulantenanalyse wird eine Logarithmierung angewendet:

$$\ln[G_1(\tau)] = a + b\tau \quad (3.28)$$

Hierbei ist Δ ein Abweichungskoeffizient von der gemittelten Größe. Diese Abweichung wird Polydispersität genannt und gibt die Breite der Größenverteilung wieder. Eine ideal monodisperse Verteilung zeigt dabei an, dass nur annähernd eine Partikelgröße in der Lösung vorhanden ist.

Aufbau der Apparatur

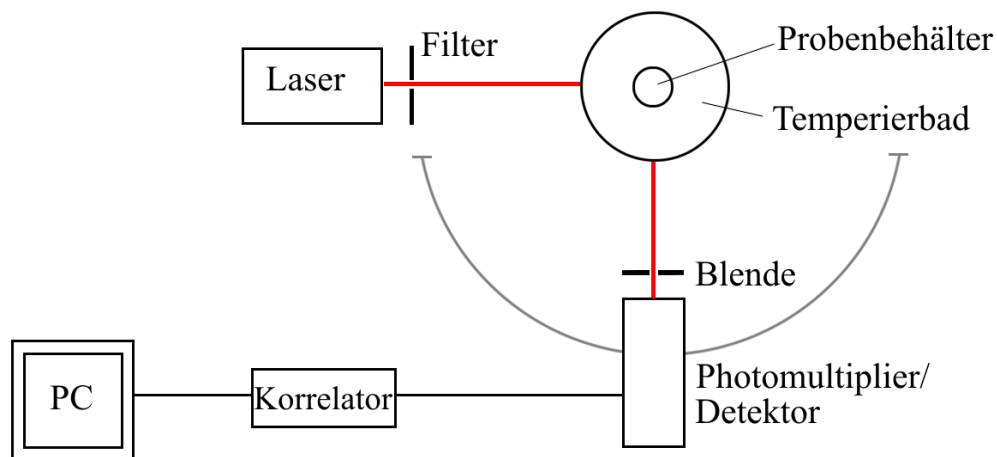


Abb. 3.13 Aufbau der Lichtstreuapparatur.

Das Goniometer BI-200SM, welches für die Messungen dieser Arbeit verwendet wurde, ist von der Firma Brookhaven Instrument Cooperation. Es beinhaltet ein HeNe-Laser ($\lambda=636$ nm), dessen Intensität mithilfe eines Filters variiert werden kann (1, 10, 20, 50 und 100%). Das Streulicht des Lasers wird im Photomultiplier detektiert. Mithilfe einer Blende kann die Menge des zu detektierenden Lichtes variiert werden (100, 200, 400 nm und 1, 2, 3 mm). Der Fotomultiplier kann im Halbkreis verschiedene Detektionswinkel im Bereich von $15-150^\circ$ anfahren. Die gesammelten Daten, werden im Korrelator umgewandelt und mithilfe des Computers wiedergegeben.

3.2.3 Zeta-Potential

Neben der Partikelgrößenverteilung kann mit Hilfe der Lichtstreuung auch das Zeta-Potential bestimmt werden. Es ermöglicht Aussagen über die Ladungen von Partikeln und kann somit zur Charakterisierung der Stabilität von Emulsionen herangezogen werden^[27,165].

Jedes Partikel in Lösung ist von einer Ladungsverteilung durch Ionen umgeben (Abb. 3.14).

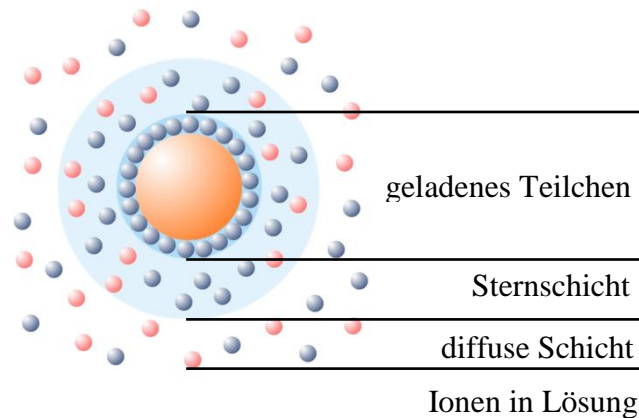


Abb. 3.14 Schematische Darstellung der Ladungsverteilung um ein Kolloidteilchen.

Die Gegenionen sitzen an der Teilchenoberfläche und bilden eine starre Schicht, die STERN-Schicht. Danach folgt eine Schicht, in der weitere Ionen diffus verteilt vorliegen. Sie sind für elektrostatische Teilchenwechselwirkungen und die Stabilität einer Partikellösung verantwortlich. Weiterhin befinden sich noch weitere Ionen in der Lösung, die mit denen um das Partikel im Gleichgewicht sind. Die Grenzschicht zwischen der STERN-Schicht und der diffusen Schicht wird Scherebene genannt. Das Potential an dieser Grenzschicht ist das Zeta-Potential ζ .

Gemessen wird das Zeta-Potential über eine modifizierte Form der Laser-Doppler-Elektrophorese. Es wird ein äußeres elektrisches Feld an die Probe angelegt. Dies führt aufgrund der Ladung der Teilchen zu einer Bewegung dieser Teilchen, die mittels Lichtstreuung erfasst werden kann. Die Teilchenbewegung ist dabei abhängig von der elektrischen Feldstärke, der Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels ϵ , der Viskosität des Lösungsmittels η , dem Zeta-Potential ζ , der elektrischen Mobilität U_e und der HENRY-Funktion $f(ka)$. Es gilt

$$U_e = \frac{2\epsilon\zeta f(ka)}{3\eta} \quad (3.29)$$

Die HENRY-Funktion ist abhängig von der Partikelgröße und der Elektrolytkonzentration des Mediums.

Die modifizierte Methode misst eine Phasenverschiebung, so dass es möglich ist, bereits kleinste Änderung in der Teilchenbewegung zu detektieren und daraus das Zeta-Potential mit Hilfe von Näherungen von Helmholtz/ Smulochowski zu ermitteln.

3.3 Mikroskopische Methoden

Für kolloidale Partikel in einer Größenordnung über 1 μm können zur Größenbestimmung und Charakterisierung lichtmikroskopische Methoden wie die Hellfeld-, Phasenkontrastmikroskopie oder der Differentielle Interferenzkontrastmikroskopie verwendet werden^[48,166-173]. Das Auflösungsvermögen von Mikroskopen ist nach ABBE definiert als

$$d = \frac{0.61\lambda}{n \sin(\gamma/2)} \quad (3.30)$$

Dabei ist λ die Wellenlänge des eingestrahnten Lichtes, n der Brechungsindex des durchstrahlten Mediums (in der Regel Luft) und γ der Öffnungswinkel des Objektivs. Der untere Term wird auch numerische Apertur genannt. Die Auflösung ist, für sichtbares Licht, im Bereich der Wellenlängen von 400-700 nm. Um eine größere Auflösung zu erreichen, werden hochenergetische Elektronenstrahlen z.B. in der Transmissionselektronenmikroskopie verwendet. Ihre Wellenlänge liegt im Bereich von 0.04-0.008 Å, womit eine Auflösung im Å-Bereich möglich ist. In den folgenden Abschnitten sollen die in dieser Arbeit verwendeten mikroskopischen Methoden näher dargestellt werden.

3.3.1 Hellfeld-Mikroskopie

Mit Hilfe der Hellfeld-Mikroskopie können Partikel durch Beugung und Interferenzerscheinungen des sichtbaren Lichtes beobachtet werden. In Abb. 3.15 ist ein schematischer Aufbau eines Mikroskops wiedergegeben.

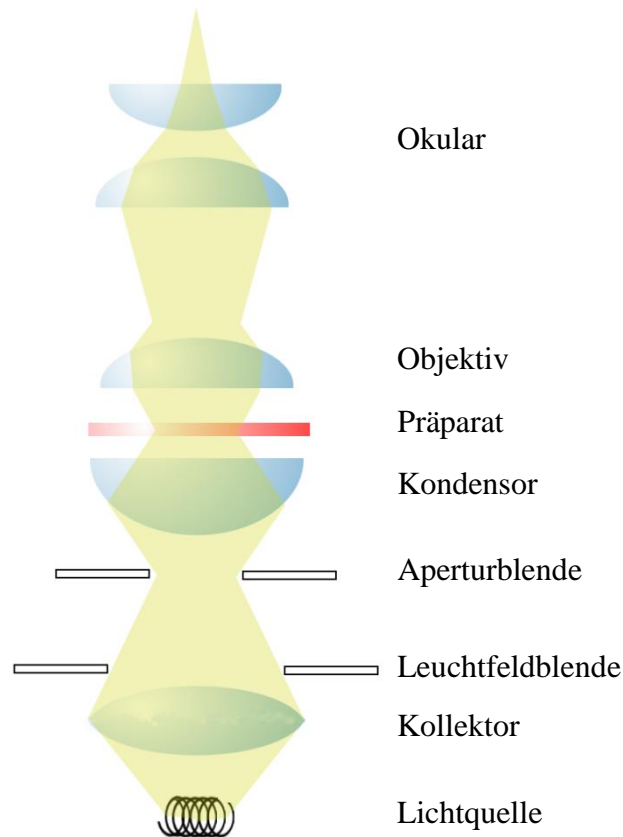


Abb. 3.15 Linsenaufbau und Strahlengang im Hellfeld-Mikroskop.

Eine Lichtquelle wird (von unten ausgehend) durch einen Kollektor in die Ebene der Aperturblende projiziert. Durch eine Leuchtfeldblende kann dieser Lichtstrahl in seiner Helligkeit und Ausbreitung gesteuert werden, wodurch eine komplette Ausleuchtung des Objektes gewährleistet wird. Mithilfe der Aperturblende wird der Öffnungswinkel des Lichts an den Öffnungswinkel des Objektivs angepasst. Dieses sorgt dafür, dass das gesamte am Objekt gebeugte Licht im Objektiv ankommt und nicht am Rand abgeschnitten wird. Die Auflösung wird dadurch erhöht. Der Lichtstrahl passiert den Kondensator, dessen Brennweite in der Objektebene liegt. Befindet sich kein Objekt im Strahlengang wird das Licht anschließend in das Objektiv weitergeleitet. Von dort gelangt es zum Okular, welches die Funktion eine Lupe übernimmt und die Brennweite in der Beobachtungsebene hat. Befindet sich ein Objekt im Strahlengang wird das Licht daran zum Teil gebeugt. Es entstehen durch Interferenzen ein Hauptmaximum und mehrere Nebenmaxima. Das Hauptmaximum liegt in der Achse des ungebeugten Lichtstrahls und reicht für eine Bilddarstellung nicht aus. In der Brennweite des Objektivs wird ein Zwischenbild durch Zusammenführung des Hauptmaximums des Lichtstrahls mit mindestens einem Nebenmaximum erzeugt, welches anschließend vom Okular aufgenommen und sichtbar gemacht wird.

3 Methoden

Durch Einführung der Aperturblende, sowie durch Verwendung von „Kompensationsokularen“ können Abbildungsfehler durch sphärische und chromatische Abberation weitgehend vermieden werden.

Neuere Aufbauten von Mikroskopen ermöglichen die Verwendung von Filtern und Strahlenteilern ohne Bildfehler und benötigen keine festgelegte mechanische oder optische Tubuslänge. Zwischen Objektiv und Okular wird eine weitere Tubuslinse eingeführt. Der Strahlengang ist in Abb. 3.16 dargestellt.

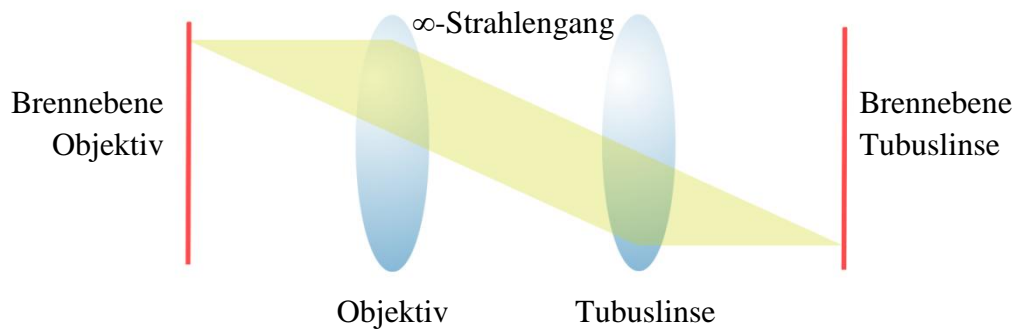


Abb. 3.16 Erzeugung eines Unendlichstrahlenganges durch Einbeziehung einer Tubuslinse.

Mit dieser Linse wird der vom Objektiv erzeugte Strahlengang parallel aufgenommen und in die Brennebene des Okulars projiziert. Der Strahlenraum zwischen Objektiv und Tubuslinse wird als ∞ -Strahlenraum, die Zusammenstellung der Linsen als ∞ -Optik bezeichnet.

3.3.2 Phasenkontrast-Mikroskopie

Lichtundurchlässige Objekte verändern die Phase des Lichtes ausreichend um eine Bilddarstellung durch Interferenz von gebeugten und ungebeugten Strahl zu ermöglichen. Anders ist dies bei transparenten Partikeln. Das an ihnen gebeugte Licht hat eine um $\frac{1}{4}$ verschobene Phase und eine geringe Amplitude. Bei Interferenz zum Zwischenbild ergibt sich keine Amplitudenänderung und das Objekt erscheint mit zu geringem Kontrast.

Um den Kontrast transparenter Objekte zu erhöhen kann der Phasenkontrast verwendet werden. Die ringförmige Aperturblende wird durch eine Ringblende, der sog. Phasenblende ersetzt. Sie dient zur besseren Trennung des direkten und gebeugten Lichtes. In die Brennweite des Objektivs wird ein sog. Phasenring aufgebracht, der deckungsgleich mit der Ringblende ist. An diesem Punkt wird das direkte Licht konzentriert und kann weitgehend unabhängig vom gebeugten Licht in der Amplitude abgeschwächt und in der Phase

3 Methoden

verschoben werden. Anschließend kann durch Interferenz des direkten und des gebeugten Lichtes ein Bild mit höherem Kontrast gewonnen werden. Treten Bereiche mit großem Lichtbrechungsindex unmittelbar neben Bereichen mit geringem Lichtbrechungsindex auf, tritt ein umgekehrter Effekt auf und diese Bereiche erscheinen heller. Öltröpfen in einer Wasserphase erscheinen aufgrund des starken Unterschiedes der Brechungsindices mit Hilfe dieser Methode als helle Flächen, die von einem dunkleren Medium umgeben sind. Vesikel können im Hellfeld durch zu geringen Kontrast nur schwach sichtbar gemacht werden. Der Unterschied der Brechungsindices zwischen der Vesikelmembran und dem wässrigen Medium kann mit Hilfe der Phasenkontrastmikroskopie genutzt werden. Das Vesikel erscheint als schwarz umrandeter Kreis, der die Membran des Vesikel darstellt.

3.3.3 Differentieller Interferenzkontrast

Auch der differentielle Interferenzkontrast kann dazu verwendet werden, transparente Objekte kontrastreicher darzustellen. Ein schematischer Aufbau des Strahlenganges beim differentiellen Interferenzkontrast ist in Abb. 3.17 dargestellt.

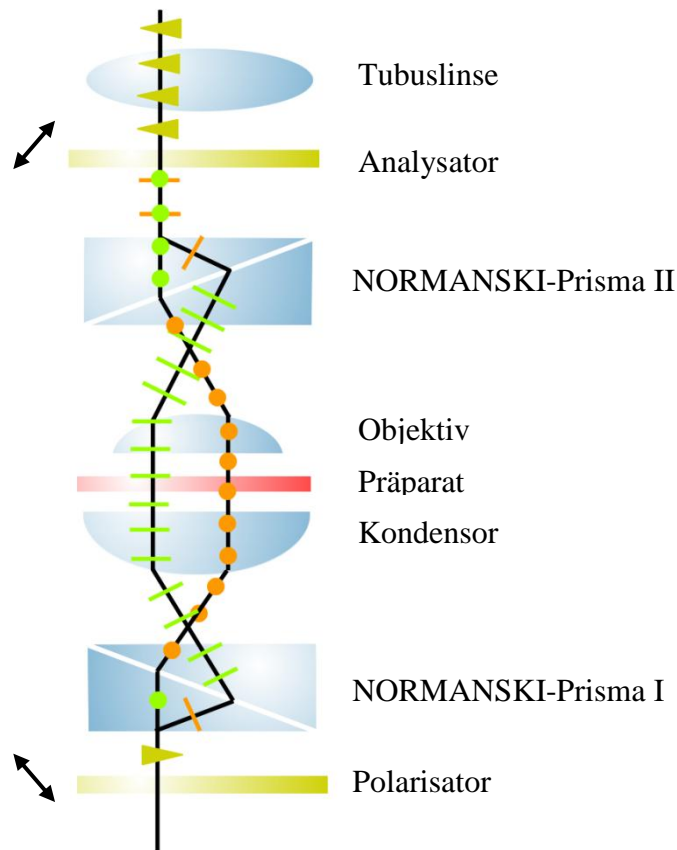


Abb. 3.17 Linsen- und Prismenaufbau sowie Strahlengang beim differentiellen Interferenzkontrast nach NORMANSKI.

Durchtritt der Lichtstrahls den Polarisator werden alle Schwingungsebenen bis auf eine ausgeblendet. Der Lichtstrahl mit nur einer Schwingungsebene wird in einem NORMANSKI-Prisma in zwei zu einander senkrecht verlaufende Strahlen (den ordentlichen und den außerordentlichen) geteilt. Die Schwingungsebenen werden dabei gedreht und sind ebenfalls senkrecht zueinander. Der zweite Teil des Prismas projiziert die Brennebene der beiden Strahlen ausserhalb des Prismas. Der Kondensor führt die Lichtstrahlen parallel durch das Objekt, wobei der Abstand der Lichtstrahlen unterhalb der Auflösung des Mikroskops ist. Die Lichtstrahlen erfahren durch unterschiedliche optische Weglängen im Objekt (bedingt durch Variation des Lichtbrechungsindex) einen Gangunterschied. Sie werden im Objektiv gesammelt und durch ein 2. NORMANSKI-Prisma wieder zu einem Lichtstrahl zusammengeführt. Im Analysator kommt es zur Interferenz beider Schwingungsebenen, so dass sich ein reliefartiges Bild ergibt.

3 Methoden

Aufbau der Apparatur

Der Aufbau des Mikroskops für die in den Abschnitten 3.3.1-3.3.3 beschriebenen Methoden ist in Abb. 3.18 dargestellt.

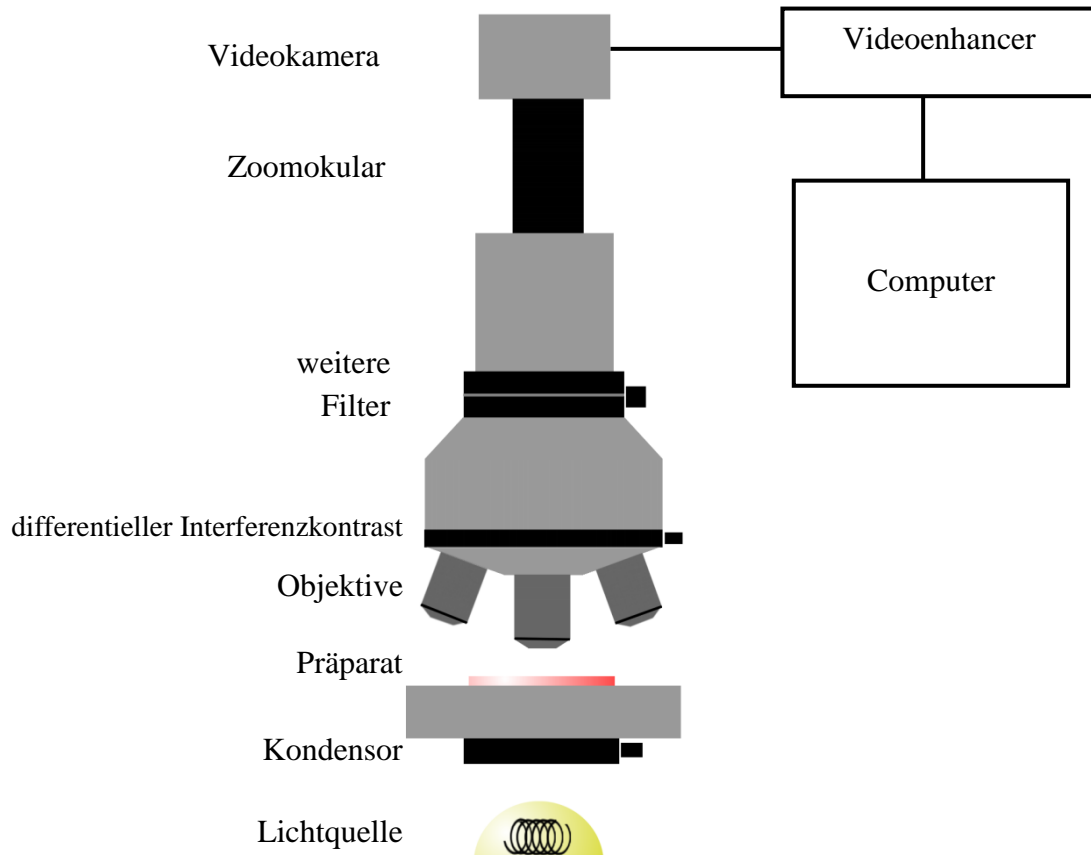


Abb. 3.18 Schematische Darstellung des Aufbaus des BX-50 Mikroskops von Olympus.

Da durch die ∞ -Optik keine Bildfehler auftreten, können diese direkt auf den CCD-Chip einer Hamatsu Videokamera C2400 projiziert werden. Mit Hilfe eines Videoenhancers (Hamatsu Argus-10 Image Processor) kann das Bild weiter bearbeitet und z.B. Verunreinigung abgezogen, Helligkeiten eingestellt und Größenskalen eingeblendet werden. Mit Hilfe eines Computers und eine Bildverarbeitungsprogrammes können anschließend Bilder und Videos aufgenommen werden. Für die Untersuchung im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Olympus BX-50 Mikroskop mit einer 100 W Lichtquelle, Plan Apo 60x und UPlan Fl 40x Objektiven sowie E A4 Okularen verwendet.

3.3.4 Long-Distance-Mikroskop

Um Proben zu untersuchen, bei denen es nicht möglich ist, sie auf einen Objektträger aufzubringen oder bei dem ein größerer Abstand notwendig ist, kann ein Long-Distance-Mikroskop verwendet werden^[27,174]. Es ist schematisch in Abb. 3.19 dargestellt und kann Proben, wie der Name schon sagt, in großer Entfernung (15-38 cm zur Objektivlinse) aufnehmen.

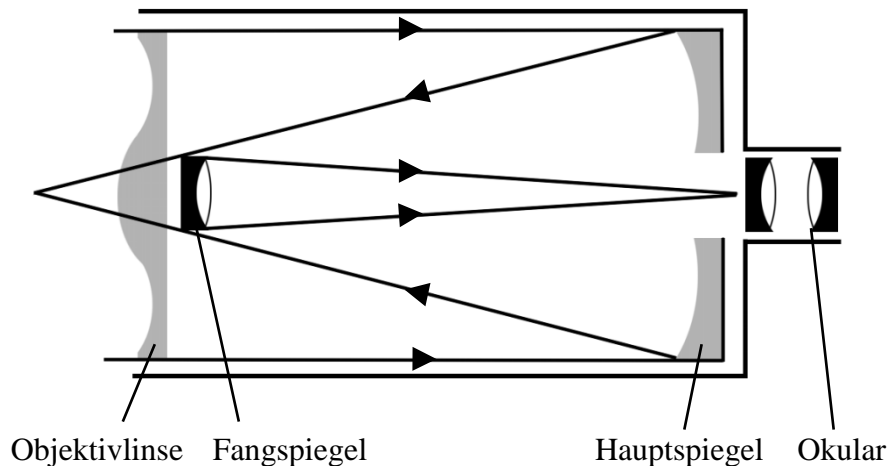


Abb. 3.19 Schematische Darstellung des Long-Distance-Mikroskops.

Die maximale Auflösung beträgt $1.1 \mu\text{m}$. Das Mikroskop QM 100 der Firma Questar besteht aus einem katadioptrischen Spiegel/ Linsen-System vom Typ MAKSUTOV CASSEGRAIN. Es besteht aus einem Objektiv und einem Okular und dazwischen angebrachten konkaven Fang- und Hauptspiegeln. Letztere sind aluminiumbedampft und erreichen so durch Reflexion der Lichtstrahlen eine große Brennweite. Im Hauptspiegel ist zentral eine Öffnung angebracht in die das Zwischenbild projiziert wird. Es kann mit Hilfe eines Okulars oder eine Kamera betrachtet werden. Die kurze Bauweise des CASSEGRAIN-Systems neigt zu Abbildungsfehlern, die durch das Objektiv behoben werden.

3.3.5 Transmission-Elektronen-Mikroskopie

Zur Untersuchung von Objekten in einer Größenordnung kleiner als die Wellenlänge des sichtbaren Lichtes werden Elektronenmikroskope verwendet^[167]. Anstelle des sichtbaren Lichtes wird ein hochenergetischer Elektronenstrahl verwendet, womit sich die maximale Auflösung erhöht und im \AA -Bereich liegt. Der Aufbau eines Transmissionselektronen-Mikroskop ist ähnlich dem eines Lichtmikroskops (Abb. 3.20).

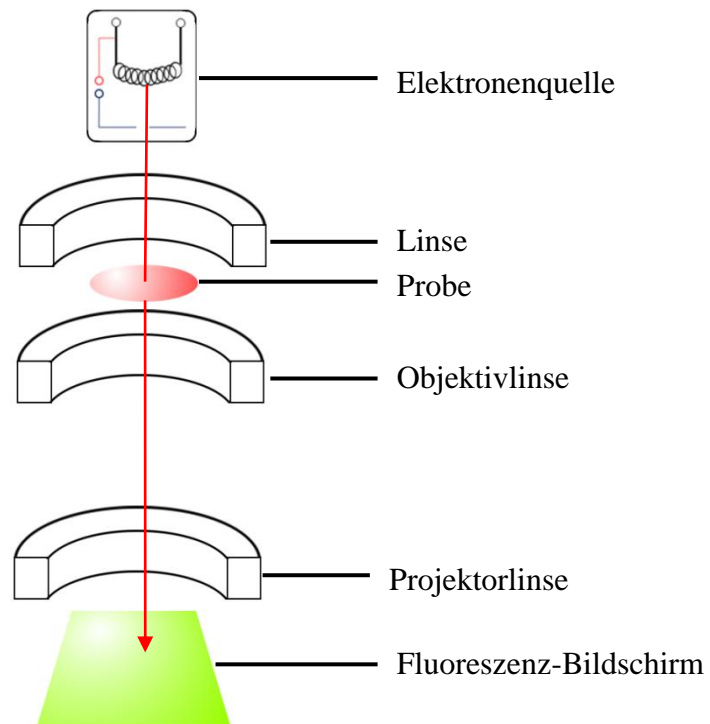


Abb. 3.20 Schematische Darstellung eines Transmission-Elektronen-Mikroskops.

Der Elektronen-Strahl wird mit Hochspannung (100-1000 kV) auf eine Geschwindigkeit von bis zu 90% der Lichtgeschwindigkeit beschleunigt. Die Elektronenwellenlänge liegt damit im Bereich von $0.04\text{-}0.008\text{\AA}$. Zur Bündelung des Elektronenstrahls werden magnetische Spulen verwendet, die jedoch ungenauer als optische Linsen sind. Nach Durchstrahlen der Probe wird der direkte und gebeugte Elektronenstrahl mit weiteren Spulen gebündelt und anschließend an einem Bildschirm als Bild visualisiert.

Die Proben müssen zur Betrachtung im Elektronenmikroskop möglichst dünn (wenige μm) sein und werden dafür meist auf einem dünnen Kupfer-Träger adsorbiert. Der energiereiche Elektronenstrahl und das Vakuum in der Apparatur können die Probe jedoch zerstören, so dass nur mit geringen Elektronendosen gearbeitet werden kann. Dies führt zu einem Rauschen, welches durch Mittelungen geglättet wird. Proben, die im Elektronenmikroskop kontrastarm erscheinen können durch organische Salze wie z.B. Ammoniummolybdat angefärbt werden.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen für diese Arbeit wurden mit dem TE-Mikroskop CM 200 der Firma Philips durchgeführt.

3.4 Spektroskopische Methoden

3.4.1 Fluoreszenz

Wird ein Atom oder Molekül in einen elektronisch angeregten Zustand überführt, kann es durch thermischen Abbau (Schwingung, Translation oder Rotation), chemische Umsetzung oder Strahlung die aufgenommen Energie wieder abgeben. Erfolgt die Anhebung in einen elektronisch angeregten Zustand durch elektromagnetische Strahlung ist die Parallelität der Übergangsdipolmomente des Moleküls mit der Schwingungsebene der elektrischen Feldkomponente des Photons wichtig. Wird die Energie in Form von Photonen emittiert, spricht man von Photolumineszenz^[17]. Diese kann weiterhin nach Art des angeregten Zustandes in Fluoreszenz (Singulett-Zustand) und Phosphoreszenz (Triplett-Zustand) unterschieden werden. Bei der Fluoreszenz erfolgt ein Elektronenübergang vom untersten angeregten Singulettzustand zum Grundzustand ohne Änderung der Spinmultiplizität (Abb. 3.21).

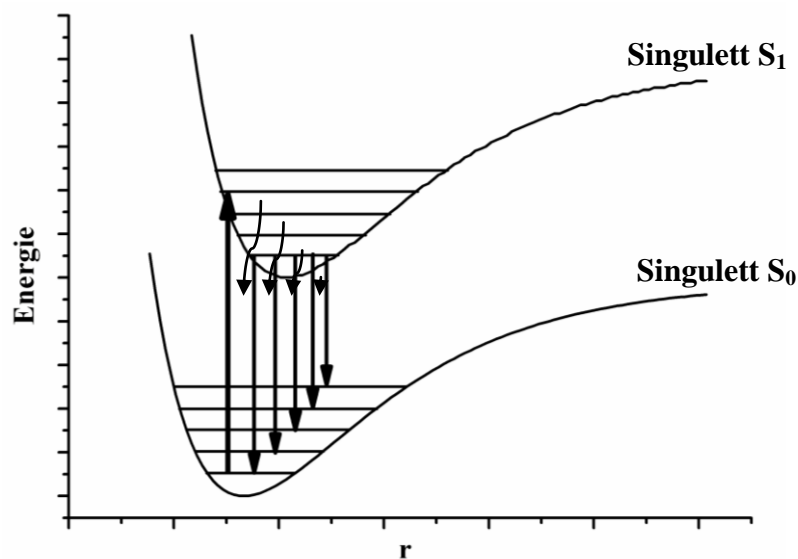


Abb. 3.21 Darstellung der Potentialkurven und Schwingungsniveaus von elektronischem Grundzustand (S_0) und elektronisch angeregtem Zustand (S_1).

Wird das Atom oder Molekül auf ein höheres Schwingungsniveau gebracht, erfolgt durch Stöße ein Abbau des Energieüberschusses (interne Konversion). Nach dem FRANK-CONDON-Prinzip erfolgt vom angeregten Zustand ein vertikaler Elektronenübergang unter Aussendung von Fluoreszenzlicht in den Grundzustand ohne relative Positionsänderung der Atome zueinander. Da ein Teil der Energie auch an die Umgebung abgegeben wird, ist die abgegebene Fluoreszenzstrahlung in ihrer Frequenz verschoben (STOKES-Shift). Diese Frequenz ist immer gleich oder kleiner als die Frequenz des eingestrahlt Lichtes. Die

3 Methoden

Wahrscheinlichkeit mit der die Anregung eines Fluorophors tatsächlich zur Emission führt, wird Quantenausbeute genannt. Eine Untersuchung der Fluoreszenz erfolgt durch Aufnahmen von Anregungs- oder Emissionsspektren. Die in dieser Arbeit untersuchten Emissionsspektren zeichnen die Änderung der Intensität der abgegebenen Strahlung in Abhängigkeit der Wellenlänge bei konstanter Intensität und Wellenlänge der Anregungsstrahlung auf. Fluorophore weisen einen starren Molekülbau auf wie z.B. Aromaten, Moleküle mit konjugierten Doppelbindungen oder Carbonylverbindungen. Um die Fluoreszenz eines Fluorophors zu schwächen, werden Quencher eingesetzt. Sie fördern nichtstrahlende Deaktivierungsprozesse und führen zu einer Fluoreszenzlöschung. Ein häufiger Quencher ist z.B. Sauerstoff. Die Abhängigkeit der Quantenausbeute von der Konzentration des Quenchers wird durch die STERN-VOLMER-Gleichung beschrieben

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{sv} \cdot c_Q \quad (3.31)$$

mit I_0 der Fluoreszenzintensität ohne Quencher, I der Fluoreszenzintensität mit Quencher, K_{sv} der STERN-VOLMER-Konstante und c_Q der Konzentration des Quenchers.

4 Ergebnisse

4.1 Charakterisierung der Grenzflächenfilme

Zur Charakterisierung der Grenzflächenfilme wurden die Grenzflächenspannungen sowie die rheologischen Eigenschaften der Filme in Abhängigkeit der Zeit gemessen. Untersucht wurden verschiedene öl- und wasserlösliche Tenside in verschiedenen Lösungsmitteln in einem Konzentrationsbereich oberhalb der kritischen Mizellbildungskonzentration (CMC) (vgl. Tab. 4.1)

Tab. 4.1 Verwendete Tenside und Lösungsmittel

	Chemikalien
Wasserlösliche Tenside/ Lipide	SDS (Natriumdodecylsulfat) DTABr (Decyltrimethylammoniumbromid) Tween 20 (Polyoxyethylensorbitanmonolaurat)
Öllösliche Tenside/ Lipide	AOT (Natrium bis(2-ethylhexyl) sulfosuccinat) Span® 80 (Sorbitan monooleat) Asolectin (Mischung verschiedener Phospholipide, Hauptbestandteil: Phosphatidylcholin)
Lösungsmittel	Decan Dodecan Tetradecan Hexadecan

4.1.1 Adsorptionskinetik

Die Adsorptionskinetik verschiedener öl- und wasserlöslicher Tenside in unterschiedlichen Lösungsmitteln wurde mittels der Pendant-Drop-Methode untersucht. Hierbei zeigte sich bei den verwendeten Konzentrationen, die alle oberhalb der CMC lagen, dass die Adsorption der amphiphilen Moleküle an den Grenzflächen sehr schnell innerhalb von Millisekunden bis Sekunden ablief (Abb. 4.1)

4 Ergebnisse

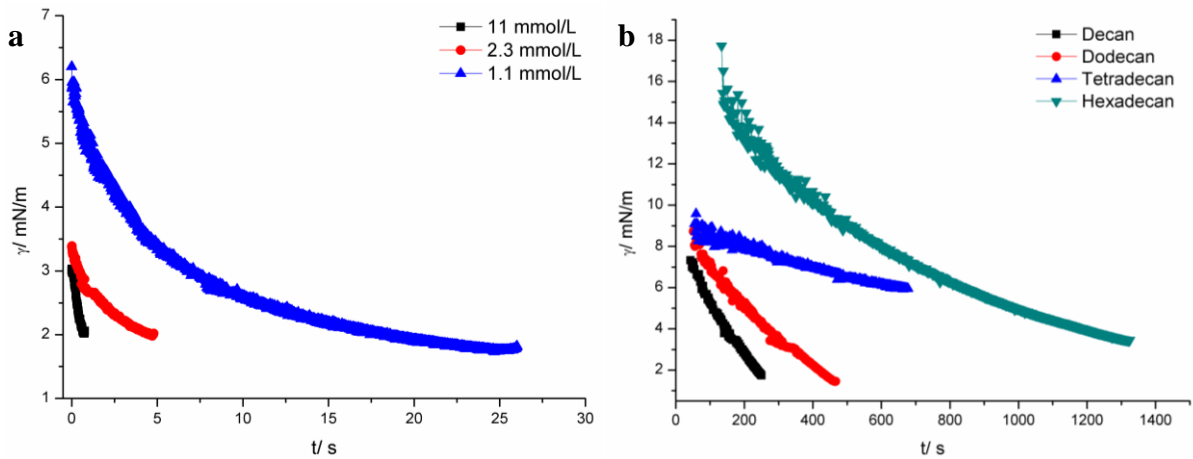


Abb. 4.1 Adsorptionskinetiken in Abhängigkeit der Konzentration und des Lösungsmittels. A) Span® 80 – verschiedene Konzentrationen b) AOT – verschiedene Lösungsmittel.

Für alle verwendeten Tenside war zu beobachten, dass eine niedrigere Konzentration zu einer längeren Adsorptionszeit führte. Auch verschiedene Lösungsmittel beeinflussen bei allen Tensiden den Verlauf der Grenzflächenspannung (Abb. 4.1). Die Abweichungen im Verlauf der Grenzflächenspannung mit dem Lösungsmittel Tetradecan können auf Verunreinigungen zurückgeführt werden. Die Tensidfilme waren dicht gepackt und die Endwerte der Grenzflächenspannung γ lagen in einem Bereich von etwa 2-10 mN/m.

Der Vergleich zahlreicher Messungen zeigte, dass Tenside aus der Lösungsmittelphase sich schneller an die Wasser/ Öl-Grenzfläche anlagern als Tenside aus der wässrigen Phase (Abb. 4.2). Dies ist auf die unterschiedliche Menge an Wasser bzw. Öl und der damit vorhandenen Anzahl an Tensidmolekülen zurückzuführen.

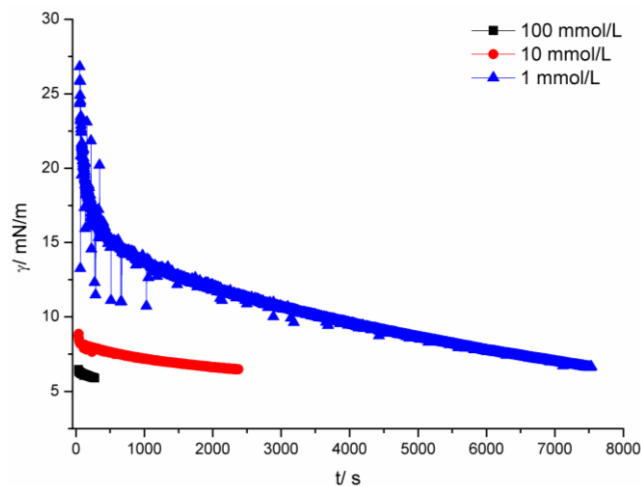


Abb. 4.2 Adsorptionskinetik in Abhängigkeit der Konzentration eines wasserlöslichen Tensids (SDS).

4 Ergebnisse

Auch Phospholipide wurden aufgrund ihrer spontanen Ausbildung von Doppelmembranen hinsichtlich ihrer Adsorptionskinetik untersucht. Aufgrund der Größe der Moleküle diffundieren Phospholipide langsamer (im Bereich von Stunden) an die Grenzfläche (Abb. 4.3).

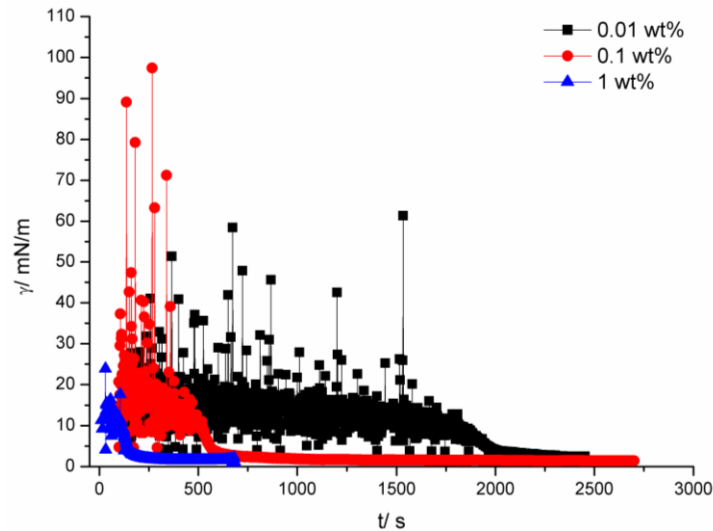


Abb. 4.3 Adsorptionskinetik von Asolectin gelöst in Dodecan in Abhängigkeit von der Konzentration (Einheit: Gewichts%).

Eine Auftragung des Oberflächendrucks π gegen die Wurzel aus der Zeit $t^{1/2}$ nach Gleichung 2.2 gibt Auskunft, ob die Adsorption der Tenside an die Grenzfläche diffusionskontrolliert ist. Ein linearer Verlauf entspricht einer diffusionsabhängigen Adsorptionskinetik. Der Diffusionskoeffizient kann dann aus der Steigung bestimmt werden. Die Linearität ist mit zunehmender Konzentration des Tensids an die Grenzfläche nicht mehr gegeben (näherungsweise ab einem Oberflächendruck $\pi \geq 20$ mN/m). Nur für sehr kleine Konzentrationen, unterhalb der CMC, und sehr langsame Adsorptionskinetiken können die Diffusionskoeffizienten bestimmt werden. Es ergibt sich eine exponentielle Abhängigkeit (Abb. 4.4). Da die Adsorptionszeit mit zunehmender Konzentration jedoch abnimmt, kann neben der Diffusion auf weitere Mechanismen (z.B. Konvektion) geschlossen werden, die zur Adsorption beitragen. Diese Ergebnisse wurden in Zusammenarbeit mit Dr. J. Krägel vom MPI für Kolloid- und Grenzflächenforschung, Potsdam-Golm, Deutschland erstellt.

4 Ergebnisse

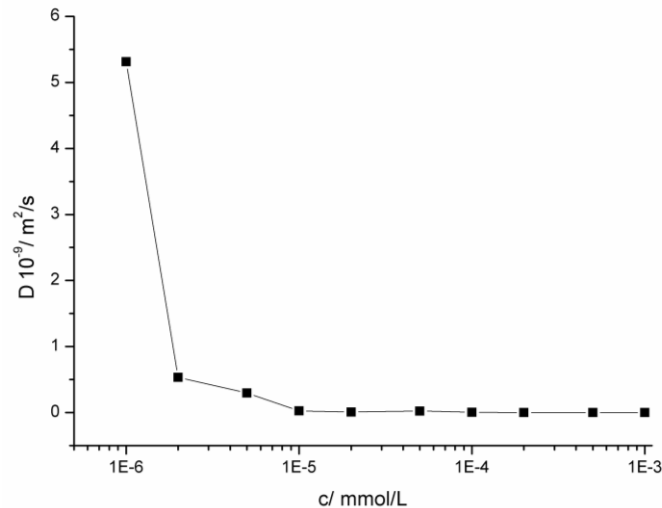


Abb. 4.4 Diffusionskoeffizienten von SDS an die Wasser/ Dodecan-Grenzfläche in Abhängigkeit der Konzentration.

Die Grenzflächenspannungen der verschiedenen Systeme wurden weiterhin mit Hilfe der Spinning-Drop-Methode sowie der WILHEMY-Platte/ dem DE NOÛY-Ring untersucht. Da die Messungen mit diesen Messmethoden langsamer verlaufen bzw. die Vorbereitungen (Befüllen der Kapillare, Tropfenbildung in der Kapillare, usw.) mehr Zeit bis zur Messung beanspruchen, können damit nur die Endwerte der Grenzflächenspannungen bestimmt werden. Ein Vergleich aller Methoden zeigt eine gute Übereinstimmung der Messergebnisse (Abb. 4.5). Die Abweichung der Endwerte für AOT mittels der Spinning-Drop-Methode ist vermutlich auf das schnelle Abreißen kleiner Tropfen bei hohen Umdrehungsgeschwindigkeiten zurück zu führen. Bei der Pendant-Drop-Methode kann es zu einem inkonsistenten Tropfenprofil (vgl. Abb. 3.1) aufgrund der geringen Grenzflächenspannung gekommen sein. Es konnten nur sehr kleine, fast sphärische Tropfen gebildet werden, die innerhalb weniger Sekunden bereits abrissen.

4 Ergebnisse

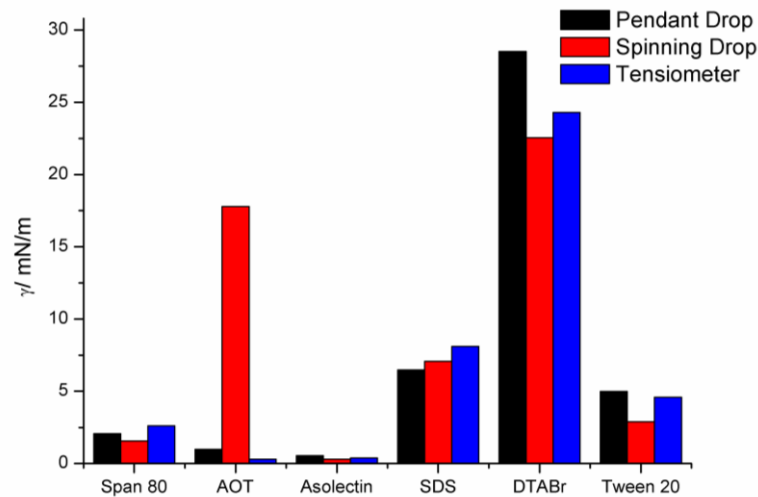


Abb. 4.5 Vergleich verschiedener Messmethoden (Pendant-Drop, Spinning-Drop, Tensiometer) zur Bestimmung der Grenzflächenspannungen (Wasser/ Dodecan) verschiedener Tenside.

Mit einer KELVIN-Sonde konnten die Oberflächenpotentiale der Tensidfilme in Abhängigkeit der Konzentration und der Lösungsmittel gemessen werden. Typische Ergebnisse sind in Abb. 4.6 dargestellt. Aufgrund der geringen Reproduzierbarkeit wurden die Daten jeweils nur einmal aufgenommen. Sie geben somit lediglich eine Tendenz der Oberflächenpotentiale wieder und liefern keine quantitativen Aussagen.

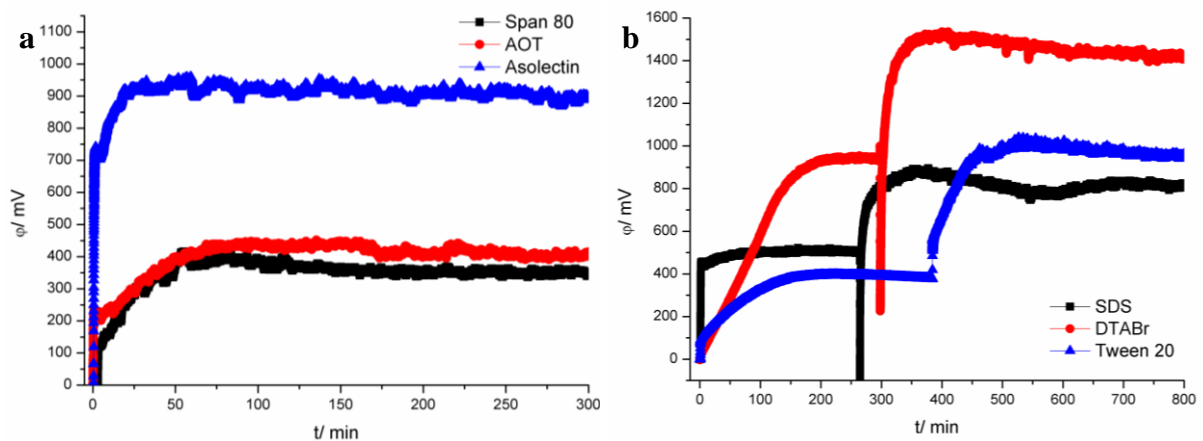


Abb. 4.6 Messung des Ober-/ Grenzflächenpotentials von a) öllöslichen Tensiden, b) wasserlöslichen Tensiden ($c_{\text{Tensid}} = 10 \text{ mmol/L}$ bzw. 1 wt%, Lösungsmittel: Dodecan).

Die gemessenen Daten zeigen relativ hohe Grenzflächenpotentiale. Die Kinetik stimmt weitestgehend mit dem zeitlichen Verlauf der Grenzflächenspannung überein. Dies deutet auf Coulomb'sche Wechselwirkungen und dichte Filmpackungen hin. Für wasserlösliche Tenside konnte gezeigt werden, dass das Grenzflächenpotential bei Überschichtung mit einem organischen Lösungsmittels zuerst sinkt und anschließend noch stärker ansteigt (Abb. 4.6).

4 Ergebnisse

Dies lässt sich durch eine Neuorientierung der Tenside und einer Streckung der Paraffinketten in die Ölphase erklären. Die Tensidmoleküle richten sich senkrecht zur Grenzfläche aus und besitzen ein starkes Dipolmoment.

4.1.2 Scherrheologische Eigenschaften

Die Messungen der scherrheologischen Grenzflächeneigenschaften erfolgten mithilfe eines Oberflächentorsionspendels an den in Tab. 4.1 beschriebenen Systemen. Untersucht wurden die Abhängigkeit der Grenzflächeneigenschaften von der Tensidkonzentration und dem Lösungsmittel. Es zeigte sich, dass eine Erhöhung der Konzentration und Lösungsmittel mit höheren Viskositäten zu stärker viskosen Grenzflächenfilmen führt (Abb. 4.7). Dies begünstigt die spätere Ausbildung von Vesikeln aufgrund der leichten Reorganisation der einzelnen Tensidmoleküle und trägt zu einer höheren Stabilität der Vesikel bei. Wie von Phospholipiden bekannt, bilden sich bei höheren Temperaturen leichter sphärische Vesikel aus. In höheren Temperaturbereichen befinden sich Phospholipid-Doppelschichten in der L_{α} -Phase, die eine hohe Fluidität und hohe Mobilität aufweist (vgl. Abschnitt 2.4.2). Die Herstellung von Vesikeln ist in dieser Phase, bzw. bei hohen viskosen Eigenschaften der Tensidfilme begünstigt.

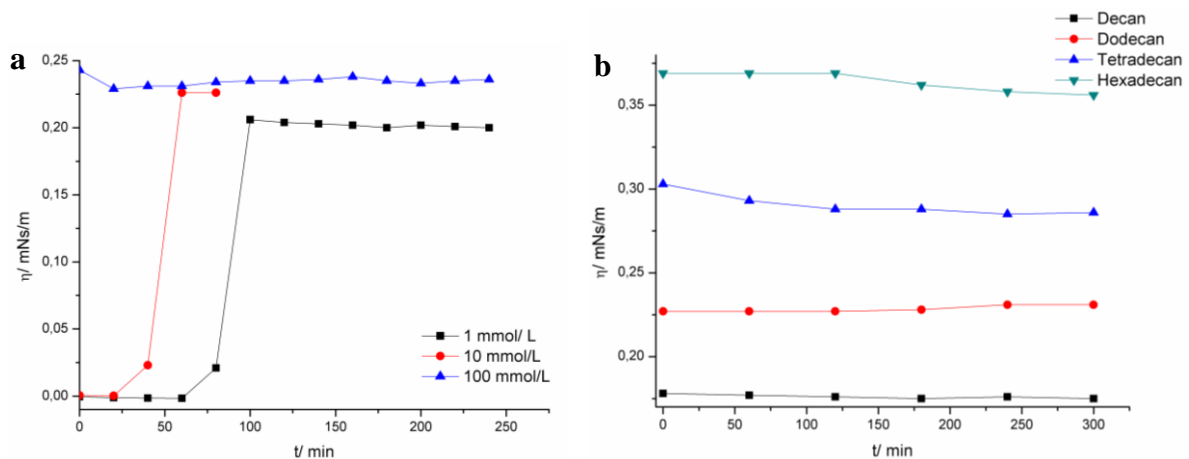


Abb. 4.7 Scherrheologische, viskose Grenzflächeneigenschaften von a) Span® 80 in Abhängigkeit der Konzentration (in Dodecan), b) in Abhängigkeit des Lösungsmittels (1 wt%).

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass auch bei diesen Messungen die Adsorption an die Grenzfläche für geringere Konzentrationen wie bei Messungen der Grenzflächenspannung langsamer abläuft (Abb. 4.7 Scherrheologische, viskose Grenzflächeneigenschaften von a) Span® 80 in Abhängigkeit der Konzentration (in Dodecan), b) in Abhängigkeit des Lösungsmittels (1

wt%).a). Die elastischen Eigenschaften der Tensidfilme waren zu gering, so dass sie mit dem Torsionspendel nicht bestimmt werden konnten. Dieses kann mit der geringen Oberflächenspannung der gebildeten Filme erklärt werden. Es konnte weiterhin bei einigen Messungen die Bildung einer milchigen Phase an der Grenzfläche beobachtet werden. Die niedrige Grenzflächenspannung führt bei hohen Tensidkonzentrationen durch die oszillierende Scherung des Messkegels in der Grenzfläche zu einer Bildung von Emulsionen an der Grenzfläche. Dies erklärt auch die längere Zeit zum Ausbilden der Tensidfilme, so dass davon auszugehen ist, dass diese vermessen wurden. Ein Vergleich der Messergebnisse mit weiterentwickelten Methoden^[175,176] ist notwendig.

4.2 Methoden der Vesikelherstellung

Die Herstellung der Vesikel mittels Phasentransfer von Emulsionen erfolgte im Rahmen dieser Doktorarbeit mit Hilfe von vier Methoden. Riesige Vesikel im Bereich von mehreren Millimeter konnten durch einfaches Zutropfen hergestellt werden. Vesikel im μm -Bereich wurden durch die Methode der Dichtevarianz sowie durch Strömungsapparaturen erzeugt. Kleine Vesikel im nm-Bereich konnten durch Zentrifugation hergestellt werden. In einigen Fällen war es notwendig, die in Tab. 4.1 aufgeführten Chemikalien durch weitere Membransubstrate oder andere Lösungsmittel zu erweitern.

4.2.1 Riesenvesikel durch Zutropfen

Nach Überschichtung einer Wasserphase mit einer Ölphase konnten durch einfaches Zutropfen von Wassertropfen in die Ölphase mittels Phasentransfer Vesikel gebildet werden^[177]. In der Öl- oder der Wasserphase wurde dafür ein Tensid gelöst, welches an die Öl-/ Wassergrenzflächen diffundierte. Der somit von Tensiden umgebene Wassertropfen wird dann unter Ausbildung einer zweiten Tensidschicht in die Wasserphase transportiert und es bildet sich ein Vesikel im Größenbereich von 1-3 mm (Abb. 4.8) aus. Der Durchtritt des Tropfens und damit der Phasentransfer wird durch eine Erhöhung der Dichte der Tropfenphase mit Saccharose ermöglicht. Um das Vesikel sichtbar zu machen, wurde der Tropfenphase der Farbstoff Methylblau zugesetzt. Da der Farbstoff in einem Bereich lokalisiert blieb und nicht in die untere Wasserphase diffundierte, kann auf die Bildung eines Vesikels geschlossen werden.

4 Ergebnisse

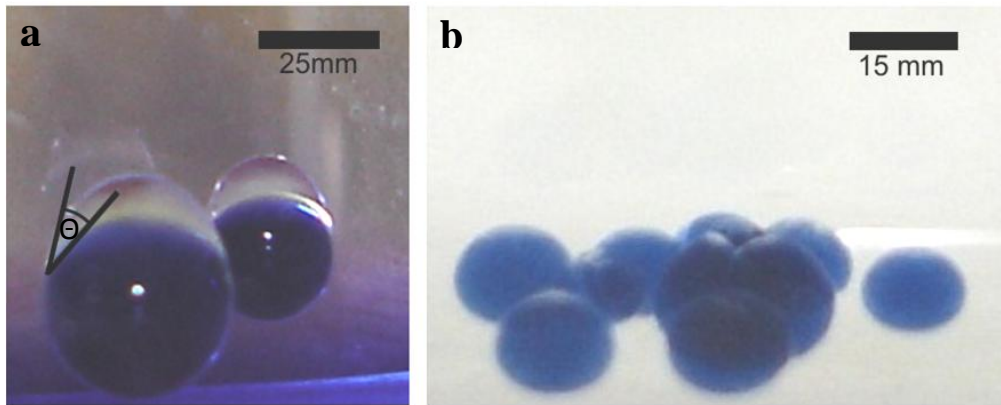


Abb. 4.8 Aufnahmen von riesigen Vesikeln hergestellt mittels Phasentransfer. a) einzelne Vesikel mit Durchmessern 3 und 5 mm hergestellt aus AOT in Olivenöl, b) einzelne und aggregierte Vesikel hergestellt mit Span® 80 in Dodecan.

Da die Vesikel zerfallen, wenn sie in Kontakt mit der Küvettenwand kommen, wurde die untere Wasserphase mit einer hochkonzentrierten Saccharoselösung unterschichtet. Die Saccharosekonzentration in der Tropfenphase sowie in der unterschichteten Phasen haben Einfluss auf die Stabilität und Ausbildung der Vesikel. Ist die Saccharosekonzentration in der Tropfenphase zu groß (> 20 wt%/ Gewichts%), können keine Vesikel gebildet werden. Der Konzentrationsunterschied zwischen innerer und äußerer wässriger Phase führt zu einem zu hohen osmotischen Druck. Dieser kann durch Saccharosemoleküle gemindert werden, die aus der unterschichteten Phase in die Wasserphase diffundieren. Haben die Tropfen dennoch eine zu hohe Saccharosekonzentration und baut sich somit ein zu hoher osmotischer Druck auf, koaleszieren sie mit der unteren Wasserphase oder zerfallen in kleinere Tropfen. Diese können durch Phasentransferprozesse kleinere Vesikel ausbilden. Alternativ zerfallen die ausgebildeten Vesikel direkt zu kleineren Vesikeln.

Für jedes Tensid muss eine andere Saccharosekonzentration gewählt werden um Vesikel ausbilden zu können. Bei Verwendung von AOT sollte lediglich eine 10 wt% Saccharoselösung eingesetzt werden, bei Span® 80 15 wt%. Dies kann auf die unterschiedlichen Packungseigenschaften der Tenside zur Ausbildung von Vesikeln zurück geführt werden. Die unterschiedliche Menge an Saccharose bewirkt eine unterschiedliche Gravitationsenergie, die zur Krümmung der äußeren Membranschicht zur Verfügung gestellt wird.

Einen weiteren Einfluss auf die Stabilität der Vesikel hat die Tensidkonzentration. Für die Bestimmung der Stabilität wurde dabei der Zeitraum gemessen, bis der Farbstoff innerhalb

4 Ergebnisse

eines Vesikels in die wäßrige Umgebungsphase diffundierte. Die Bestimmung erfolgte ohne optische Hilfsmittel. Nur wenn die Tensidkonzentration ausreichend hoch ist, konnte eine Lokalisierung des Farbstoffs und damit die Ausbildung eines Vesikels beobachtet werden. Sowohl für Span® 80 (CMC in Dodecan: $1.9 \cdot 10^{-2}$ mmol/L^[148]) und AOT (CMC in Dodecan ~ 1 mmol/L^[178]) lag diese Mindestkonzentration bei 1 mmol/L. Zur Herstellung von Vesikeln mittels Phasentransferprozessen ist somit eine Tensidkonzentration oberhalb der CMC notwendig. Dies kann u.a. auf die schnelle Adsorptionskinetik und die vollständige Belegung der Emulsionstropfen zurückgeführt werden. Der Tropfen sollte vor Erreichen der Öl-/Wassergrenzfläche und vor dem Phasentransfer möglichst vollständig mit einem Tensidfilm bedeckt sein, da sonst keine innere Membranschicht ausgebildet wird. Dies würde die Ausbildung eines Vesikel verhindern und der Tropfen würde mit der unteren Wasserphase koaleszieren.

Auch die Tensidstruktur hat Einfluss auf die Stabilität der Vesikel. Phospholipide bilden häufig bereits selbstständig Doppelschichtstrukturen aufgrund ihres Packungsparameters aus. Mit ihnen lassen sich die stabilsten Vesikel herstellen. Im Gegensatz dazu bilden ionische Tenside riesige Vesikel mit einer sehr viel geringeren Stabilität aus. Dies lässt sich u.a. auf die Abstoßung der ionischen Kopfgruppen zurückführen, die sich in der Doppelschicht räumlich sehr nahe kommen. Ein weiterer Grund für die geringe Stabilität bei wasserlöslichen Tensiden ist das Bestreben nach größtmöglicher Entropie. Diese und der damit im Zusammenhang stehende Packungsparameter sorgen für den Zerfall der Vesikel aus wasserlöslichen Tensiden in Mizellen. In einigen Experimenten konnte beobachtet werden, dass die Vesikel zerfielen, bevor sie die untere Sacchararoseschicht erreichten. Eine Zusammenfassung der Vesikelstabilität in Abhängigkeit der Tensidstruktur ist in Tab. 4.2 wiedergegeben.

Tab. 4.2 Zeit bis zum Zerfall der riesigen Vesikel in Abhängigkeit der Tensidstruktur

Tensid	Tensidart	Stabilität der Vesikel
AOT/ SDS	ionisch	Millisekunden – Sekunden
Span® 80	nicht-ionisch	Minuten
Asolectin	Lipid	Stunden

Der letzte Einflussparameter, der näher untersucht wurde, ist die in die Membran eingebaute Ölphase. Wie in Abb. 4.8 zu sehen, wird in die Membran während des Phasentransferprozesses Öl eingebaut. Aufgrund der geringeren Dichte rahmt es innerhalb der

4 Ergebnisse

Membran unter Ausbildung einer Öllinse auf. Vesikel, die durch Zutropfen einer reinen Wasserphase (ohne Saccharose) entstanden sind, rahmen unterhalb der Öl-/Wassergrenzfläche auf. Dabei koalesziert die Öllinse nicht mit der oberen Ölphase, sondern es legt sich eine neue dritte Tensidschicht um den Bereich des Vesikels, der in die Ölphase ragt (Abb. 4.9). Es wäre somit möglich multilamellare Vesikel zu erzeugen, wenn das Vesikel, z.B. durch Mikropipetten^[92,179] zurück transportiert wird.

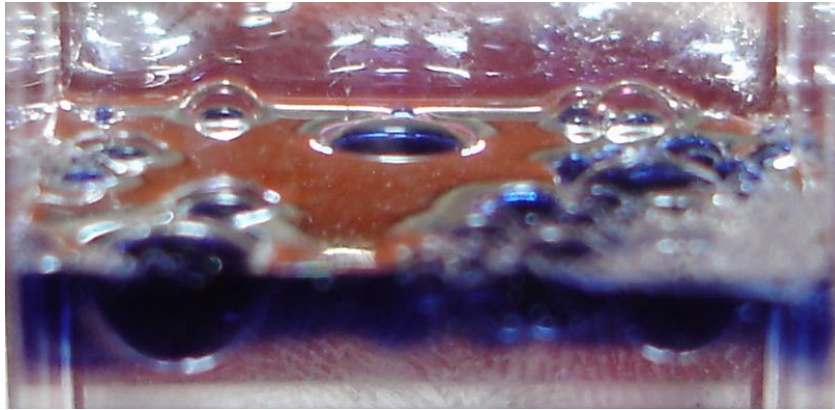


Abb. 4.9 Aufnahme von riesigen Vesikeln, hergestellt ohne Saccharose. Die Vesikel rahmen an der Öl-/Wassergrenzfläche auf. Die Öllinsen ragen unter Ausbildung einer dritten Membranschicht in die Ölphase.

Der Öleinbau erfolgt während des Phasentransferprozesses. Der zugegebene Wassertropfen wird in der Ölphase von einer Tensidschicht umgeben. Während der Tropfen die Grenzfläche passiert, bildet sich eine zweite Tensidschicht um den Tropfen. Direkt nach der Vesikelbildung bildet sich oberhalb des Partikels ein Ölstrang aus (Abb. 4.10). Bei Erreichen einer bestimmten Länge reißt der Strang unter Ausbildung eines geschlossenen Tensidfilms ein. Dieser Vorgang verläuft im Millisekundenbereich und kann nur mittels Hochgeschwindigkeits-Videoaufnahmen beobachtet werden. Der Dreiphasenkontaktwinkel (siehe Abb. 4.8 a) beträgt bei allen hergestellten Vesikel 15-35°.

4 Ergebnisse

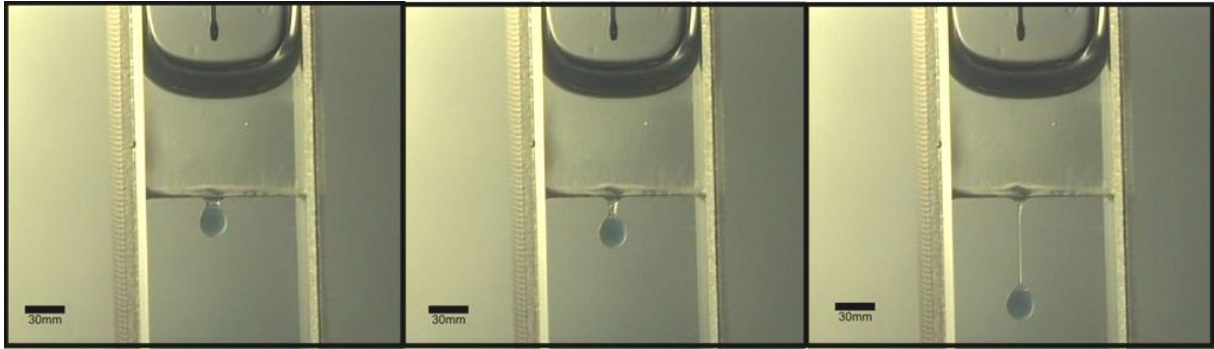


Abb. 4.10 Videoaufnahme der Ausbildung des Ölstrangs während der Vesikelbildung. Zeitzunahme von links nach rechts.

Die Menge des eingebauten Öls kann nicht quantitativ erfasst werden. Experimentell findet man sowohl kleine Vesikel mit einer großen Öllinse als auch große Vesikel mit einer kleinen Öllinse. Wie in Abb. 4.11 zu erkennen ist, trennen sich kleine Öltropfen von der Membran ab. Diese rahmen zur oberen Ölphase auf.

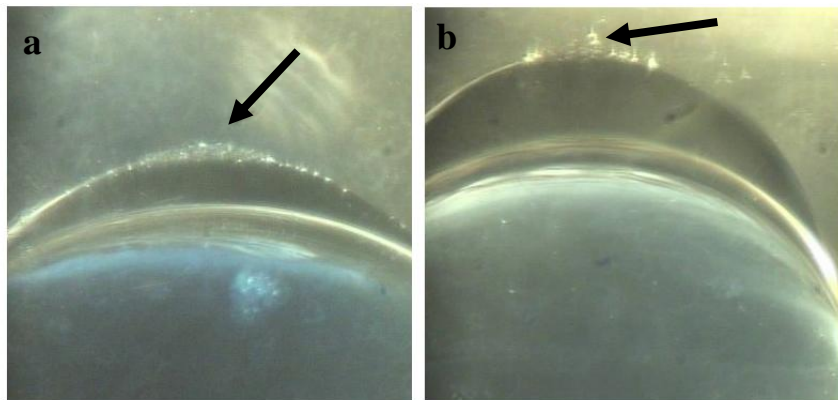


Abb. 4.11 Aufnahmen der Öllinsen eines a) großen Vesikels (3 mm) und b) kleinen Vesikels (1.5 mm) hergestellt aus Span® 80/ Span® 85. An der Oberseite der Linse ist das Abreißen kleiner Öltropfen sichtbar (Markierung).

Das Abreißen der kleinen Öltropfen führt zu einem Ausdünnen des Ölfilms in der Membran. Befindet sich nicht mehr genug Öl innerhalb der Membran zerfällt das Vesikel. Dieser Zerfall ähnelt Vortex-Strukturen, die beim Durchstoßen einer „black lipid membrane“ auftreten^[87].



Abb. 4.12 Verwirbelungen nach Zerfall eines riesigen Vesikels oder Tropfens von der Grenzfläche.

Ähnliche Verwirbelungen treten auf, wenn die Tropfen keine Vesikel ausbilden und an der Grenzfläche zerfallen (Abb. 4.12). Die Beobachtungen mit Hilfe von Videofilmen zeigten, dass diese Tropfen nur wenige Sekunden an der Grenzfläche verweilen. Tropfen mit wasserlöslichen Tensiden blieben auf der Grenzfläche liegen und drückten diese nur ein wenig ein, während Tropfen mit öllöslichen Tensiden in die Wasserphase einsanken (Abb. 4.13). Es muss sich dabei um den unteren Teil des Tropfens bereits eine Doppelmembran ausgebildet haben, die als Vorstufe für die Vesikelbildung dient. Zu beobachten war weiterhin, dass die Tropfen mit öllöslichen Tensiden eine starke Tendenz aufwiesen zum Rand der Küvette zu wandern. Dieses Verhalten wirkte oft der Ausbildung definierter Vesikel entgegen.

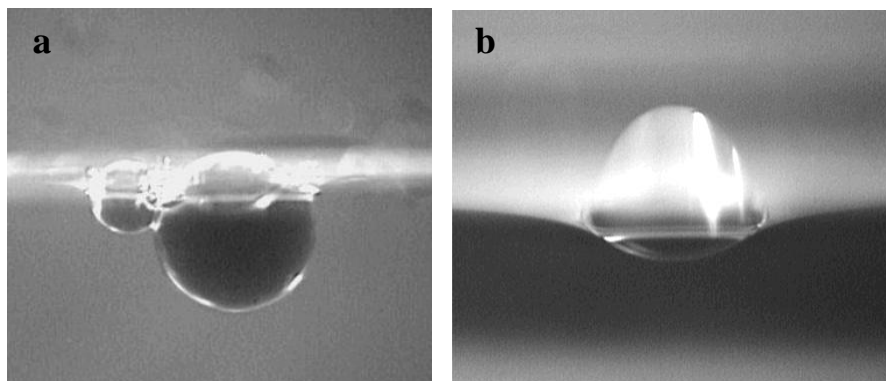


Abb. 4.13 Tropfen auf der Grenzfläche liegend. a) Der Tropfen mit Span® 80, öllöslich, sinkt bereits in die untere Wasserphase unter Ausbildung einer Doppelmembran ein. b) Der Tropfen mit Tween 20, wasserlöslich, bleibt auf der Grenzfläche liegen und drückt diese ein.

4 Ergebnisse

Nach dem Zerfall setzt sich der eingebaute Farbstoff am Boden der Küvette ab und diffundiert auch nach mehreren Tagen nicht in die wässrige Phase. Verwirbelungen bzw. Strömungen der lamellaren Phasen führen zur Ausbildung neuer, kleinerer Vesikel, in die der Farbstoff eingebaut wird. Mittels dynamischer Lichtstreuung und TEM können diese Partikel in einem breiten Größenspektrum nachgewiesen werden (Abb. 4.14). Die niedrige Zählrate während der dynamischen Lichtstreuung deutet auf die Entstehung weniger Vesikel hin. Die TEM-Aufnahmen zeigen die Bildung von Vesikeln mit einer ausgeprägten Oberflächenstruktur (Abb. 4.14). Dennoch kann eine Emulsionsbildung durch aufruhmende Öltröpfen neben den Vesikeln nicht ausgeschlossen werden. Die Vesikel weisen für wasserlösliche Tenside eine sehr geringe Stabilität von wenigen Minuten auf. Danach ist nur noch eine Detektion von Mizellen möglich. Aus dem Zerfall von großen Vesikeln aus öllöslichen Tensiden entstandene kleine Vesikel sind bis zu 24h stabil.

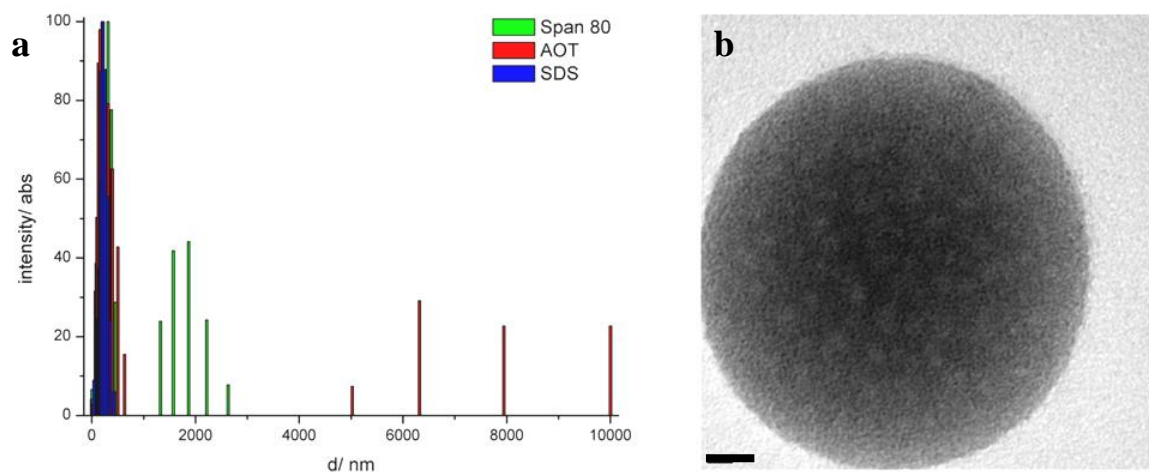


Abb. 4.14 a) Messung mittels dynamischer Lichtstreuung nach Zerfall der riesigen Vesikel. b) „negative-staining“ TEM-Aufnahme eines zerfallenen AOT-Vesikels, Hellfeld (Größenskala: 10 nm)

Um die Stabilität der Vesikel im Größenbereich von 1-3 μm zu verlängern (vgl. Tab. 4.2), wurde die Dichte der Ölphase durch Zusatz des öllöslichen Zuckers SAIB (Saccharoseacetatisobutyrat) erhöht. Dieser Zucker weist in Dodecan nur eine begrenzte Löslichkeit auf. Die Ergebnisse deuten eine minimale Zunahme in der Stabilität der Vesikel an (Abb. 4.15). 10 wt% des Zuckers lösten sich nicht mehr vollständig im Lösungsmittel auf, so dass in der nachfolgenden Abbildung 10 wt% dem Sättigungswert entspricht.

4 Ergebnisse

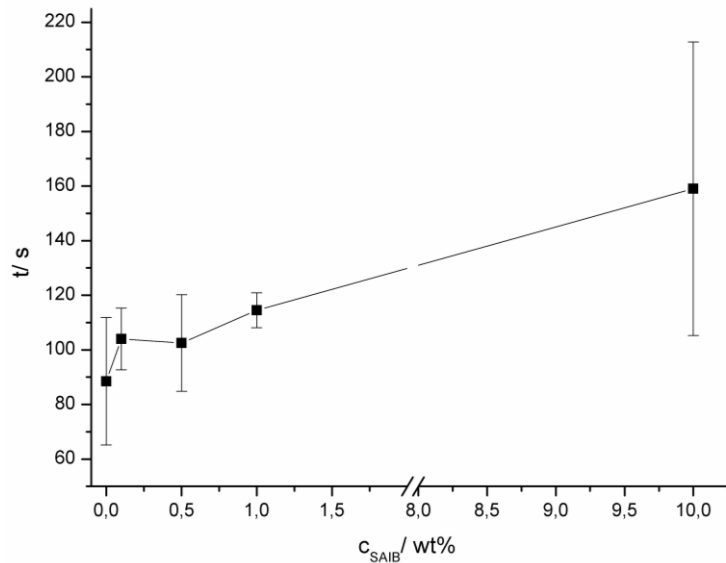


Abb. 4.15 Stabilitätsmessung (Zeit) riesiger Vesikel hergestellt aus Span® 80 in Dodecan mit unterschiedlichen Konzentrationen an SAIB in der Ölphase.

4.2.2 Zentrifugation

Zum Transport der Wassertropfen von der Öl- in die Wasserphase wurden in weiteren Untersuchungen Zentrifugalfelder angelegt. Hierzu wurden in einem Zentrifugenröhrchen eine wäßrige Phase mit einer Ölphase überschichtet und die W/O-Emulsion im Ultraschallbad hergestellt und zur Ölphase hinzugefügt. Der Phasentransfer der Wassertropfen der Emulsion erfolgte mittels Zentrifugation. Die dynamische Lichtstreuung weist auf Partikel im Größenbereich von 100-500 nm in der wäßrigen Lösung hin (Abb. 4.16 a). TEM-Aufnahmen (Abb. 4.16 b) bestätigen das Vorhandensein von Vesikeln gleicher Größenordnung. Da beim Überschichten der Wasser- mit der Ölphase oftmals bereits eine schwache Emulsionsbildung auftritt, und diese Tropfen zusätzlich durch die Phasen transportiert werden können, muss dieser Effekt bei der Datenauswertung der dynamischen Lichtstreuung mit berücksichtigt werden. Dieser Effekt bewirkt auch eine schlechte Reproduktion der Ergebnisse. Die Bildung von Vesikeln erforderte eine Mindestzeit der Zentrifugation von ca. 10-15 min. Beim Unterschreiten dieser Zeitspanne war die obere Ölphase noch trüb oder es konnte ein weißer Film auf der Grenzschicht beobachtet werden. Mikroskopische Untersuchungen zeigten, dass es sich hierbei um dicht gepackte Emulsionstropfen handelte, die an die Grenzfläche sedimentierten.

4 Ergebnisse

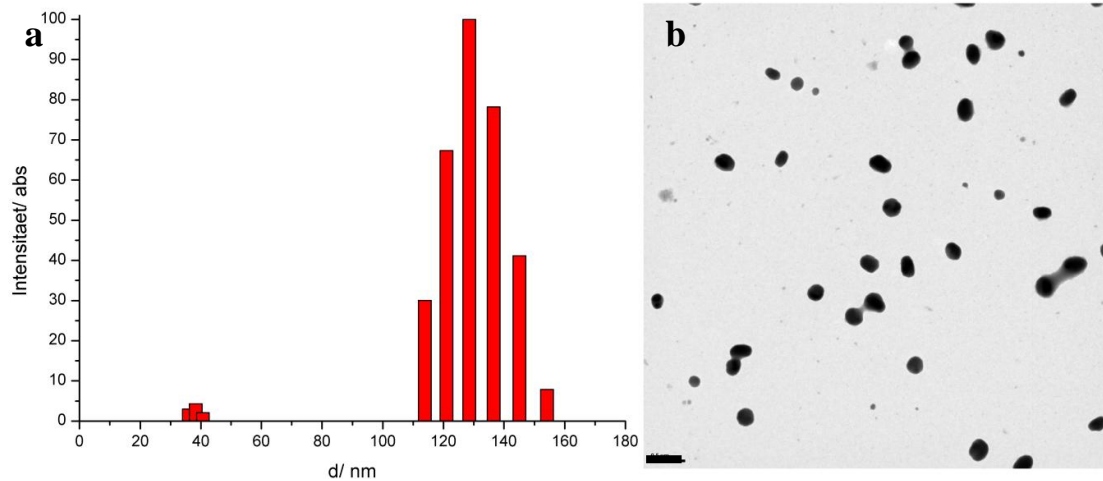


Abb. 4.16 DLS und „negative-staining“ TEM-Aufnahme von Vesikel hergestellt aus AOT und Dodecan. a) Größenverteilung gemessen mittels dynamischer Lichtstreuung, b) „negative-staining“ TEM-Aufnahme, Hellfeld (Größenskala: 500 nm).

Mit Phospholipiden konnten keine Partikel im Größenbereich von 100-500 nm detektiert werden. Lediglich Partikel $d_h > 1 \mu\text{m}$ konnten mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung gemessen werden. Da mikroskopische Untersuchungen der wässrigen Lösung jedoch keine Vesikel zeigten, kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei den Aggregaten eher um lamellare Doppelschichten handelt. Eine mögliche Erklärung ist die langsame Adsorptionskinetik der Phospholipide (vgl. Abb. 4.3). Da die Phospholipide nur sehr langsam an die Grenzflächen diffundieren, reicht eine Zeitspanne von 15 min im Ultraschallbad nicht aus um eine vollständige Belegung der Wassertropfen mit Lipiden zu gewährleisten. Somit treffen beim Phasentransfer nur zum Teil mit Lipiden besetzte Bereiche auf die Lipidschicht der zweiten, größeren Grenzfläche. Die zweite Schicht weist aufgrund der längeren Wartezeit dabei eine annähernd vollständige Belegung auf. Werden Zentrifugalkräfte angelegt, reißen lamellare Doppelschichten von der Grenzfläche ab und der Wassertropfen koalesziert mit der unteren Wasserphase.

Ob mit dieser Methode auch Vesikel aus wasserlöslichen Tensiden hergestellt werden, lässt sich mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung nicht eindeutig klären. Wie in Abb. 4.17 zu erkennen ist, weisen die Mizellen eine deutlich höhere Intensität auf als weitere Partikel, die in der Lösung vorhanden sein könnten. Weiterhin ist es oberhalb der CMC nicht ausgeschlossen, dass sich wurmartige Mizellen ausbilden, die die Ergebnisse der dynamischen Lichtstreuung weiter verfälschen. Die Partikel im Größenbereich von

4 Ergebnisse

200-500 nm waren sehr instabil und konnten nach 24 h nicht mehr nachgewiesen werden, während Partikel aus öllöslichen Tensiden auch nach 1 Woche noch stabil bleiben.

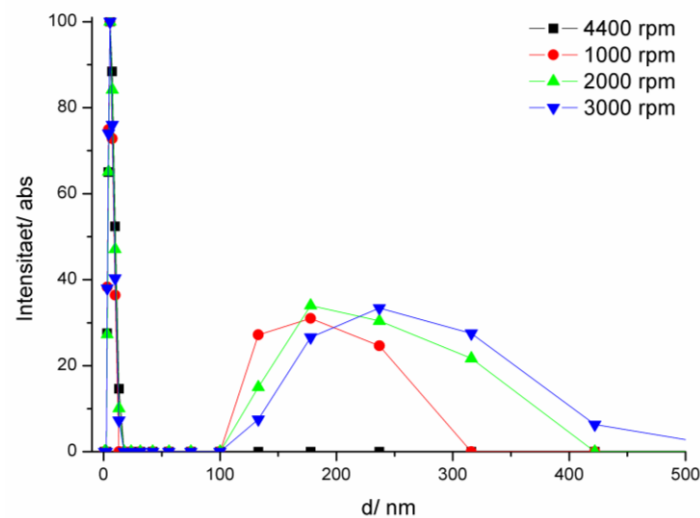


Abb. 4.17 Größenverteilung einer möglichen Vesikelsuspension hergestellt aus Tween 20 und Dodecan, gemessen mittels dynamischer Lichtstreuung, in Abhängigkeit der Zentrifugalkraft.

Mithilfe von TEM-Aufnahmen konnte gezeigt werden, dass sich auch sphärische Partikel im Bereich von 100-200 nm finden (Abb. 4.18). Die Verfärbung im rechten Teil in Abb. 4.18 ist auf getrockneten Farbstoff (Ammoniummolybdat) zurückzuführen. Eine Ausbildung von Vesikeln aus wasserlöslichen Tensiden ist deswegen nicht ausgeschlossen. Es können jedoch keine Aussagen zur genauen Größenverteilung und Stabilität getroffen werden.

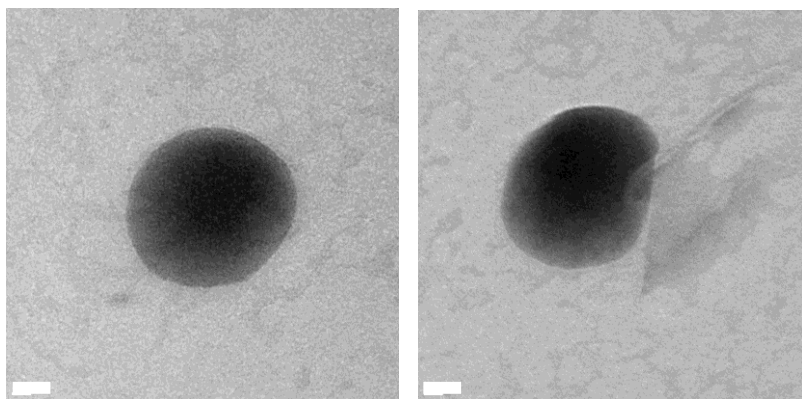


Abb. 4.18 „Negative-staining“ TEM-Aufnahmen von Partikeln in einer Vesikelsuspension hergestellt aus SDS und Dodecan (Hellfeld, Größenskala: 20 nm).

Zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen der Emulsionsgröße und der Vesikelgröße wurden die Emulsionen mittels DLS vermessen. Die meisten wiesen eine zu starke Trübung und damit einen zu hohen Rückstreuungseffekt auf um vermessen zu werden. Eine sinnvolle

4 Ergebnisse

Messreihe ist in Abb. 4.19 dargestellt. Die Emulsionen zeigten eine sehr schnelle Koaleszenz, die mit zunehmender Zeit zu größeren Tropfen führte.

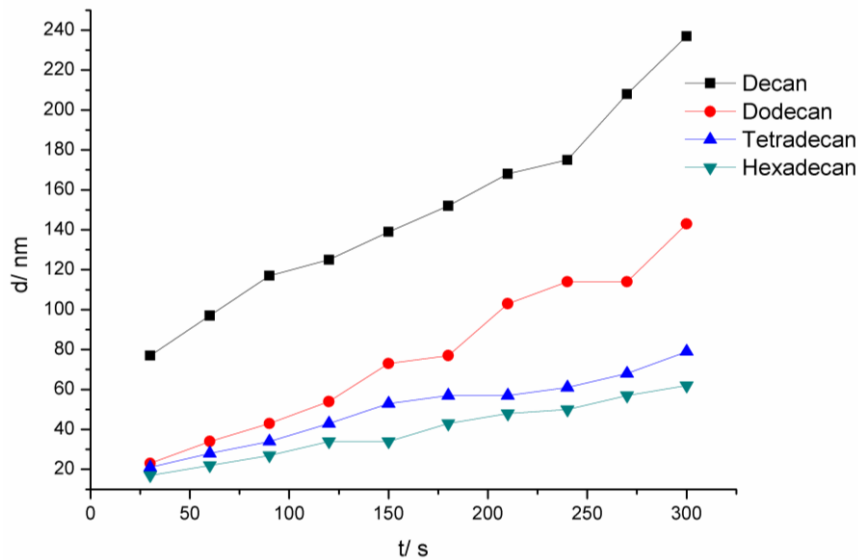


Abb. 4.19 Zeitliche Abhängigkeit der Partikelgröße von der Art des Lösungsmittels in einer Emulsion mit Asolectin.

Ein Zusammenhang zwischen der Emulsionsgröße (es wurde der Wert nach einer Minute zu Grunde gelegt) und der Vesikelgröße ist in Abb. 4.20 dargestellt. Da die Werte der Vesikelgröße aufgrund der Emulsionsbildung beim Überschichten beeinflusst werden, können nur ungenaue Aussagen über den Zusammenhang zwischen der Vesikel- und der Emulsionsgröße getroffen werden. Es fällt auf, dass die mittlere Vesikelgröße mit zunehmender Tropfengröße der Emulsion kleiner wird. Da die Vesikelgröße nicht den Dimensionen der Wassertropfen entspricht, kann davon ausgegangen werden, dass an der Grenzfläche Koaleszenzprozesse erfolgen, die durch Umlagerungen der Membran zur Vesikelbildung führen.

4 Ergebnisse

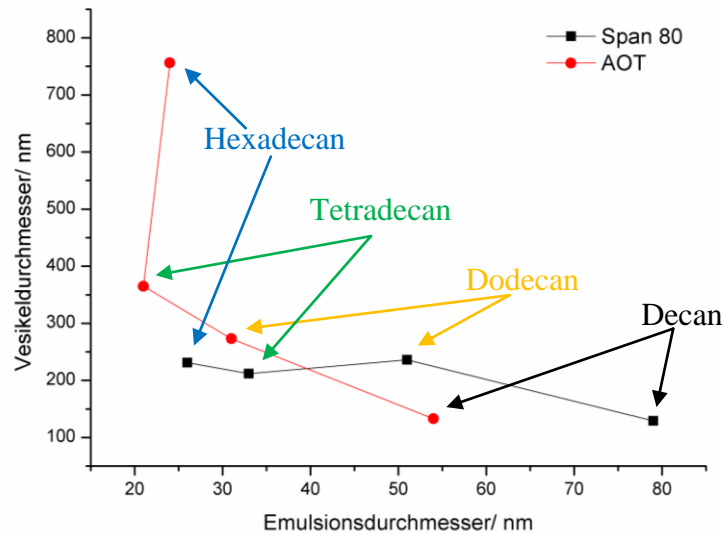


Abb. 4.20 Abhängigkeit der Vesikel- von der Emulsionsgröße von AOT und Span® 80 in verschiedenen Lösungsmitteln.

Weitere Abhängigkeiten der Vesikelgröße ließen sich in Bezug auf die Art des Tensids, die Wassermenge der eingesetzten Emulsion, der Zentrifugationsgeschwindigkeit und des Lösungsmittels finden. Vesikelsuspensionen, die aus AOT hergestellt wurden, wiesen eine stärkere Trübung und eine höhere Zählrate bei Messungen der dynamischen Lichtstreuung auf als Vesikelsuspensionen, die aus Span® 80 hergestellt wurden. Auch in „negative staining“ TEM-Aufnahmen der Vesikellösungen aus Span® 80 ließen sich im Vergleich zu Vesikeln aus AOT (vgl. Abb. 4.16) nur wenige Partikel finden. Die Vesikelkonzentration liegt somit bei aus AOT hergestellten Vesikeln höher als bei Span® 80-Vesikeln. AOT weist eine Strukturähnlichkeit mit Phospholipiden auf (2 hydrophobe Ketten und 1 hydrophile Kopfgruppe), so dass davon ausgegangen werden kann, dass sich Tenside dieser Struktur aufgrund des Packungsparameters eher zur Vesikelbildung eignen als Tenside mit nur einer hydrophoben Kette.

Die Vesikelgröße steigt mit zunehmendem Wasseranteil in der W/O-Emulsion an (Abb. 4.21).

4 Ergebnisse

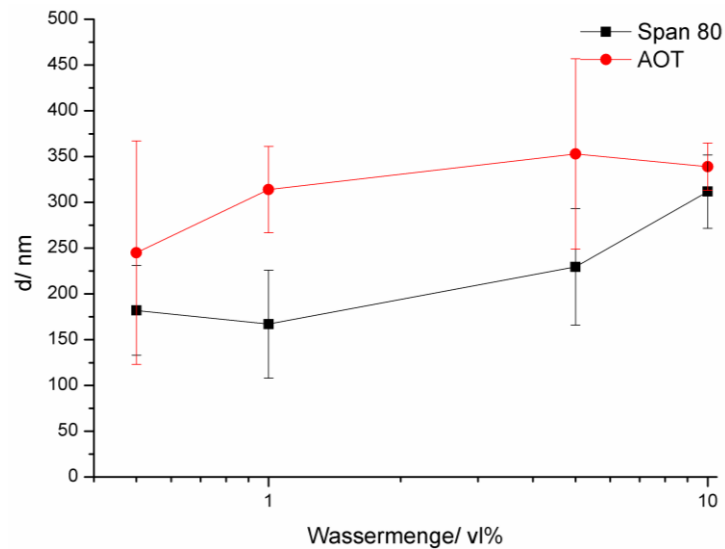


Abb. 4.21 Abhängigkeit der Vesikelgröße vom Wasseranteil der W/O-Emulsion von AOT und Span® 80.

Dies kann mit Koaleszenzprozessen erklärt werden, die häufiger auftreten, je mehr Wassertropfen in der Lösung vorhanden sind. Dadurch können mehr große Wassertropfen in die untere Wasserphase überführt werden. Alternativ ist auch eine Koaleszenz direkt an der Grenzfläche möglich. Da der Zeitraum des Phasentransfers nicht bekannt ist, jedoch eine Mindestzeit der Zentrifugation erforderlich war, um Vesikel in der unteren Wasserphase zu detektieren, kann davon ausgegangen werden, dass der Phasentransfer langsam erfolgt. Die Tropfen auf der Grenzfläche, die zur Wasserphase hin bereits eine Doppelschicht aufgebaut haben (vgl. Abb. 4.13), können von oben noch mit weiteren Tropfen koaleszieren und größere oder auch elliptische Vesikel ausbilden.

Die Vesikelgröße ist weiterhin davon abhängig, wie stark das angelegte Zentrifugalfeld für den Phasentransfer ist (Abb. 4.22).

4 Ergebnisse

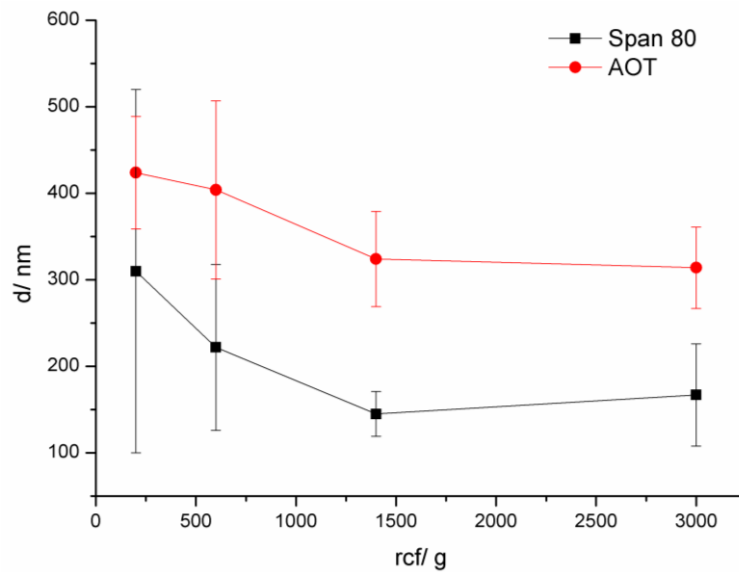


Abb. 4.22 Abhängigkeit der Vesikelgröße (AOT und Span® 80) von der Kraft des angelegten Zentrifugalfeldes.

Mit zunehmender Kraft, die auf die Emulsionstropfen wirkt, entstehen beim Phasentransfer kleinere Vesikel (unter Vernachlässigung der Fehler). Hierfür können zwei Erklärungsansätze in Betracht gezogen werden. Zum einen erfahren die Wassertropfen bei einer niedrigeren Zentrifugalkraft eine geringere Beschleunigung. Somit ist auch die Geschwindigkeit der Wassertropfen zur Grenzfläche hin langsamer. Während dieses Zeitraumes können vermehrt Koaleszenzprozesse auftreten, die zu größeren Emulsionstropfen und zu größeren Vesikeln führen. Zum anderen erfahren die Wassertropfen mit niedrigerer Zentrifugalkraft eine geringere Energieeinwirkung. Je größer der Wassertropfen bei einer festgelegten Zentrifugalkraft, desto größer die Energie. Diese Energie kann die nach Gleichung (2.13) nötige Energie zur Ausbildung einer Doppelschicht liefern. Die Energie zur Ausbildung einer Doppelschicht ist nur von der Biegesteifigkeit der Tensidschicht abhängig und kann somit als konstant angesehen werden. Je niedriger die Zentrifugalkraft ist, desto größer muss der Wassertropfen zum Erreichen der notwendigen Energie sein. Je größer die Zentrifugalkraft ist, desto kleiner können die Wassertropfen zum Phasentransfer sein.

Ein Zusammenhang zwischen beiden Erklärungen kann nicht ausgeschlossen werden. Die langsamere Beschleunigung und die damit einhergehende höhere Koaleszenzrate sowie die Notwendigkeit großer Wassertropfen zum Erreichen einer Mindestenergie, bei einer niedrigen Zentrifugalkraft begünstigen sich gegenseitig.

Als letzte Einflussgröße der Vesikelgröße wurde das Lösungsmittel bestimmt. Mit zunehmender Kettenlänge des Lösungsmittels, ändert sich die Vesikelgröße je nach Art des

4 Ergebnisse

Tensids (Abb. 4.23). Untersucht wurden einfache, unverzweigte Alkane mit zunehmender Anzahl an C-Atomen.

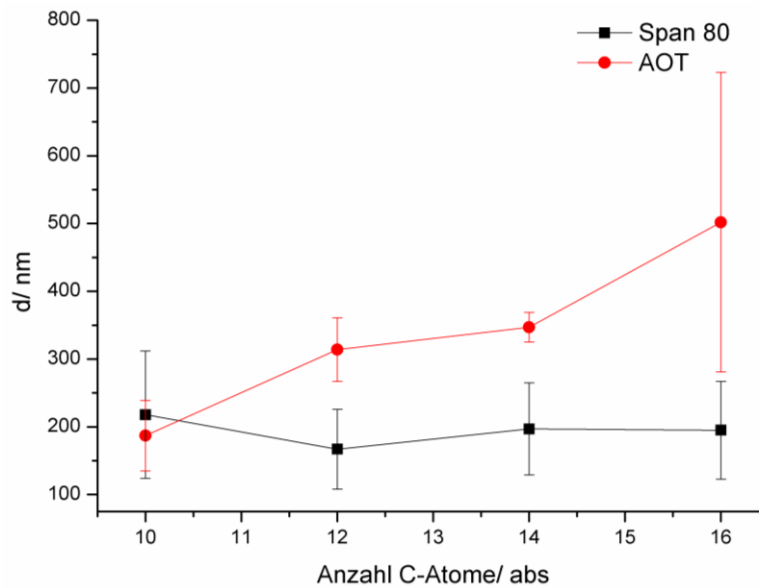


Abb. 4.23 Abhängigkeit der Vesikelgröße (AOT und Span® 80) vom Lösungsmittel der Emulsion.

Ein möglicher Erklärungsansatz berücksichtigt dabei die Sinkgeschwindigkeit in den verschiedenen Lösungsmitteln sowie die damit zusammenhängenden Koaleszenzprozesse. Wie in Abb. 4.19 zu sehen, nimmt die Tropfengröße der Emulsion mit zunehmender Kettenlänge ab. Die Sinkgeschwindigkeit lässt sich nach Gleichung (2.20) berechnen. Mit zunehmender Kettenlänge des Lösungsmittels steigen die Dichte und die Viskosität. Es ergibt sich nach der obigen Gleichung eine abnehmende Sinkgeschwindigkeit der Tropfen. Somit steigt die Koaleszenzwahrscheinlichkeit an. Die Größe der aus AOT gebildeten Vesikel kann mit zunehmender Kettenlänge aufgrund von erhöhten Koaleszenzraten steigen. Die Wassertropfen mit Span® 80 hingegen setzen den Koaleszenzprozessen eine höhere Stabilisierung durch das Tensid entgegen. Aufgrund des niedrigen HLB-Wertes von Span® 80 ist eine W/O-Emulsion begünstigt und gut stabilisiert. Während des Absinkens treten daher bei Wassertropfen, die mit Span® 80 stabilisiert sind, weniger Koaleszenzprozesse auf. Die Abhängigkeit der Größe der Wassertropfen in den Emulsionen überträgt sich damit auf die Vesikelgröße.

Die Polydispersität aller Größenverteilungen der Span® 80-Vesikel lag im Bereich von 1.8 ± 1.6 . Sie sank mit zunehmendem Wasseranteil der Emulsion, sowie mit zunehmender Zentrifugationsgeschwindigkeit. Dies lässt sich mit der daraus resultierenden höheren Vesikelkonzentration erklären, die eine geringe Fluktuation der Intensität und somit zu einer konstanteren Messung der Autokorrelationsfunktion geführt hat. Die Polydispersität aller

4 Ergebnisse

Größenverteilungen der AOT-Vesikel lag im Bereich von 0.297 ± 0.038 . Hier konnten keine Schwankungen in Abhängigkeit des Wasseranteils der Emulsion oder der Zentrifugationsgeschwindigkeit bestimmt werden.

Für Vesikel aus AOT wurde aufgrund ihrer ionischen Kopfgruppe eine weitere Abhängigkeit gefunden. Die Größe der Vesikel, gebildet aus AOT, hängt von der Salzkonzentration des gewählten Puffers ab. Dies ist in Abb. 4.24 für unterschiedliche Mengen Natriumchlorid in der wässrigen Phase (TBS-Puffer) dargestellt.

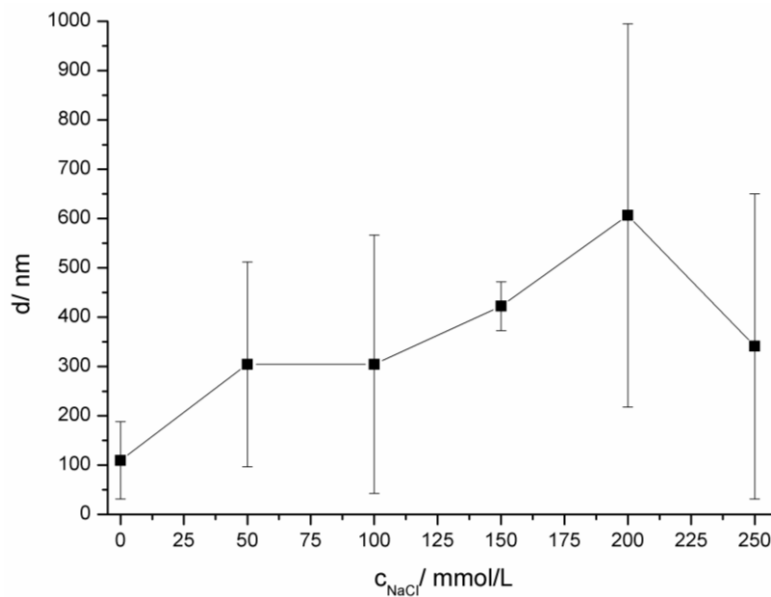


Abb. 4.24 Abhängigkeit der Vesikelgröße (AOT) von der Salzkonzentration des gewählten Puffers.

Aufgrund der geänderten Salzkonzentration ändert sich auch der Platzbedarf der ionischen Kopfgruppe. Diese Änderung führt zu einem jeweils anderen Packungsparameter und damit zu unterschiedlich begünstigten Vesikelgrößen. Um diese Erklärung zu stützen, wurden π -A-Isothermen von AOT-Monoschichten auf Wasserphasen mit unterschiedlichen Salzkonzentrationen (0-250 mmol/L NaCl) aufgenommen. Einige Beispiel-Isothermen sind in Abb. 4.25 dargestellt. Hierbei entspricht der obere Teil der Kurven einer Verkleinerung der Fläche, der untere einer Vergrößerung.

4 Ergebnisse

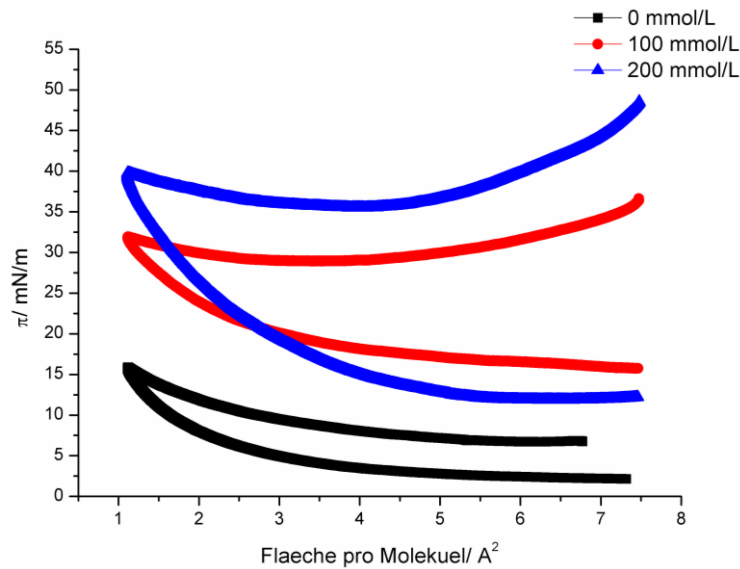


Abb. 4.25 Zyklische π/A -Isothermen von AOT auf wässrigem Puffer (0, 100 und 200 mmol/L NaCl, 5 mmol/L Tris). Der obere Teil der Kurven entspricht einer Verkleinerung der Fläche, der untere Teil entspricht einer Vergrößerung der Fläche.

Wie zu erkennen ist, ergeben sich unterschiedliche π/A -Isothermen bei einer Verkleinerung und einer Vergrößerung der Fläche. Dies deutet auf eine Wasserlöslichkeit der AOT-Moleküle hin. Eine genaue Bestimmung der Kopfgruppengröße ist damit nicht möglich. Die Größe der Kopfgruppenfläche wurde für die Isothermen bei Verkleinerung der Fläche dennoch durchgeführt um den Verlauf der Größe in Abhängigkeit der Salzkonzentration abzuschätzen (Abb. 4.26).

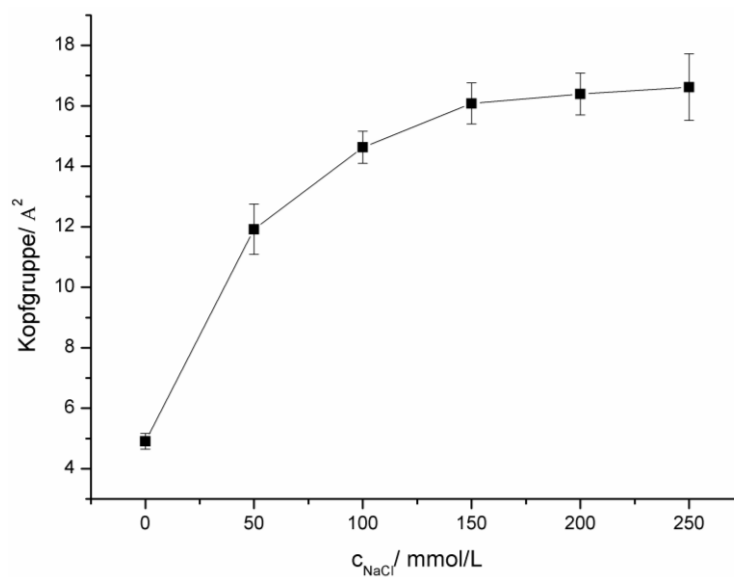


Abb. 4.26 Abhängigkeit der Kopfgruppengröße von AOT von der Salzkonzentration der wässrigen Phase, bestimmt für π/A -Isothermen bei Verkleinerung der Fläche.

4 Ergebnisse

Mit zunehmender Konzentration von NaCl im verwendeten Puffer steigt die Größe der Kopfgruppe von AOT. Eine Abschätzung des Volumens und der Länge der hydrophoben Ketten ist aufgrund der Verzweigung nicht möglich. Da das Volumen und die Länge als konstant angesehen werden kann, sinkt der Packungsparameter nach Gleichung (2.5) mit zunehmender Salzkonzentration. Die zunehmende Größe der Kopfgruppe der AOT-Tenside erklärt somit die Abhängigkeit der Vesikelgröße von der Salzkonzentration. Eine weitere Erklärung ist in Referenz^[70] beschrieben. In ihr wird eine theoretische Abhängigkeit der Biegesteifigkeit von der Salzkonzentration erklärt. Wie bereits oben dargestellt, wird eine Mindestenergie benötigt um eine Doppelschicht auszubilden, die abhängig von der Biegesteifigkeit ist. Da die Biegesteifigkeit mit der Salzkonzentration korreliert, ergeben sich für unterschiedliche Salzkonzentrationen unterschiedliche Mindestenergien, die zur Ausbildung von Doppelschichten und damit von Vesikeln benötigt werden (vgl. Gleichung (2.13)). Bei gleicher Zentrifugalkraft und gleichem Lösungsmittels der Emulsion ergibt sich eine Gravitationskraft, die nur vom Tropfenradius abhängig ist. Um die benötigten Mindestenergien bereit zu stellen, sind somit unterschiedliche Tropfengrößen notwendig. Dies führt zu unterschiedlichen Vesikelgrößen.

Abhängigkeiten der Vesikelgröße von der Tensidkonzentration oder des Zeitraums, der für den Phasentransfer zur Verfügung steht, konnten nicht beobachtet werden.

Eine Messung des Zeta-Potentials ζ ergab keinerlei Abhängigkeiten für Vesikel aus AOT bzw. Span® 80. Für beide Vesikelarten, hergestellt aus einer 1 v1% (Volumen%) Emulsion in Dodecan mit 10 mmol/L Tensid, ergaben sich die in Tab. 4.3 angegebenen Werte. Für andere Lösungsmittel, Tensidkonzentrationen und Wasseranteile der Emulsion ergaben sich Werte, die in derselben Größenordnung lagen und in einem Bereich von ± 10 mV um den angegebenen Wert schwankten.

Tab. 4.3 Zeta-Potentiale von Vesikeln aus AOT und Span® 80 hergestellt mittels Zentrifugation.

Tensid	ζ / mV
AOT	-83.59 ± 11.69
Span® 80	-52.54 ± 10.90

Auch aus Mikroemulsionen lassen sich Vesikel mit Hilfe eines Phasentransfers herstellen. Experimentell wurde auch hierfür die Zentrifugation verwendet. Beispieldiagramme für den

4 Ergebnisse

Größenunterschied zwischen der Tropfengröße einer Mikroemulsion und den daraus erhaltenen Vesikeln sind in Abb. 4.27 dargestellt.

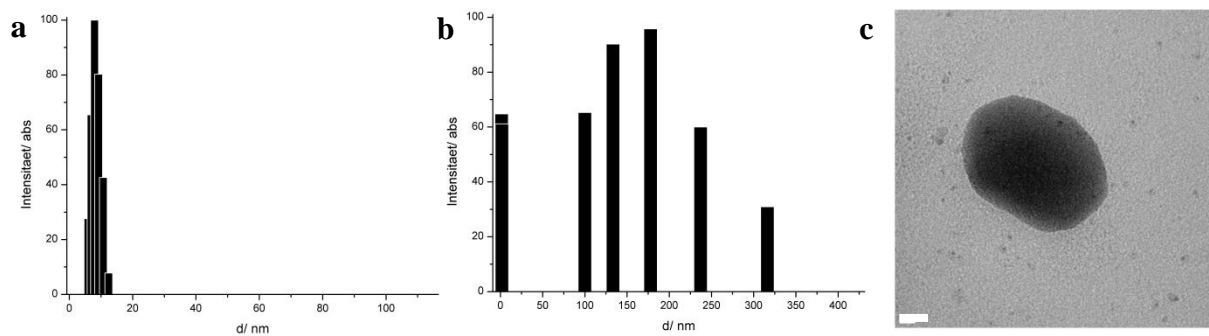


Abb. 4.27 DLS-Größenverteilung einer Mikroemulsion (a) und daraus hergestellter Vesikel (b) aus AOT und Isooctan. c) „negative-staining“ TEM-Aufnahme eines Vesikels, Hellfeld (Größenskala: 20 nm).

Die Messergebnisse der dynamischen Lichtstreuung der Vesikel zeigen in der Regel zwei Größen. Die kleineren Partikel können dabei Mizellen, lamellare Phasen oder eine O/W-Mikroemulsion sein.

Anders als bei Vesikeln, die durch Phasentransfer von Emulsionen mit zunehmendem Wasseranteil der Emulsion größer werden, konnte bei Vesikeln, hergestellt aus Mikroemulsionen das Gegenteil beobachtet werden. Je größer der Wasseranteil in der Mikroemulsion, desto größer waren die Tropfen der Mikroemulsion, aber desto kleiner waren die erhaltenen Vesikel. Aufgrund der thermodynamischen Stabilität von Mikroemulsionen treten keine oder nur wenige Koaleszenzprozesse innerhalb der Mikroemulsion auf. Aber auch in diesem Fall benötigt die Ausbildung von Doppelschichten bzw. Vesikeln eine Mindestenergie, die aufgrund gleicher Systembedingungen durch den Tropfenradius bereitgestellt werden muss. Wird ein Mikroemulsionstropfen zur Grenzfläche transportiert, verweilt er dort, bis seine Größe durch Koaleszenz angewachsen ist und die Gravitationskraft für einen Phasentransfer ausreicht. Da kleinere Tropfen längere Zeit auf der Grenzfläche verweilen um eine Mindestgröße zu erreichen, können mehr Tropfen angesammelt werden. Die so an der Grenzfläche durch Koaleszenz gebildeten Tropfen und die damit hergestellten Vesikel sind größer als Vesikel aus großen Mikroemulsionstropfen, die eine kürzere Verweilzeit auf der Grenzfläche haben. Es ergibt sich bei Mikroemulsionen durch eine geringere Wassermenge und eine geringere Tropfengröße, eine längere Verweilzeit der Tropfen an der Grenzfläche, aus der größere Vesikel resultieren.

4 Ergebnisse

Es erwies sich als schwieriger Vesikel durch den Phasentransfer von Mikroemulsionstropfen herzustellen. Die Zählrate der dynamischen Lichtstreuung und auch die „negative staining“ TEM-Aufnahmen weisen auf eine geringere Vesikelkonzentration als für Vesikel aus Emulsionen hin. Aufgrund der thermodynamischen Stabilität der Mikroemulsion lassen sich deren Tropfen nur bedingt durch Phasentransfer in die untere Wasserphase überführen. Testmessungen der dynamischen Lichtstreuung der Ölphase nach der Zentrifugation zeigten auch weiterhin das Vorhandensein einer Mikroemulsion.

Bei der Herstellung von Vesikeln aus Mikroemulsionen kann innerhalb der Wasserphase direkt unter der Grenzfläche die stärkste Trübung beobachtet werden. Eine Anfärbung der inneren Phase deutet darauf hin, dass die mittels Zentrifugation hergestellten Vesikel in der gesamten unteren Wasserphase zu finden sind. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass sich unterhalb der Grenzfläche eine spontane O/W-Mikroemulsion ausbildet. Dies würde die kleineren Partikel erklären, die in Messungen der dynamischen Lichtstreuung detektiert wurden.

Das Zeta-Potential der Mikroemulsionen liegt aufgrund der hydrophoben Ketten, die in die Ölphase weisen, in einem Bereich um 0 mV. Die ungenauen Messmöglichkeiten des Zetapotentials ζ von hydrophoben Ketten im Vergleich zu ionischen Gruppen, führen zu einem höheren Fehler. Die hergestellten Vesikel weisen ein sehr viel negatives Potential ähnlich dem der aus Emulsionen hergestellten Vesikel auf (Tab. 4.4).

Tab. 4.4 Zeta-Potentiale von Mikroemulsionen und daraus mittels Zentrifugation hergestellter Vesikel

System der Mikroemulsion	$\zeta_{\text{Mikroemulsion}} / \text{mV}$	$\zeta_{\text{Vesikel}} / \text{mV}$
AOT/ Toluol	-1.38 ± 7.9	-161 ± 1.7
AOT/ Heptan	-0.57 ± 6.6	-186 ± 2.1
Span 20/ Tween 80/ Decan	-0.35 ± 1.1	-78 ± 12.6

Zur Bestimmung der Membrandicke der Vesikel wurden Messungen der statischen Lichtstreuung durchgeführt. Hierzu wurde zunächst der Vesikelbruch der Vesikel mittels Viskositätsmessungen bestimmt. Für sphärische Partikel gilt dabei^[180]:

$$\varphi = \left(\frac{\eta_{\text{Partikel}}}{\eta_{\text{Lösungsmittel}}} - 1 \right) \cdot \frac{2}{5} \quad (4.1)$$

4 Ergebnisse

mit $\eta_{Partikel}$ der Viskosität der Partikellösung (Vesikel), $\eta_{Lösungsmittel}$ der Viskosität des Lösungsmittels (Wasser) und φ dem Volumenbruch.

Das verwendete Schwingplattenviskosimeter wies eine Genauigkeit von 1% auf. Um eine ausreichende Konzentration zu erreichen, wurden Vesikel aus einer Emulsion mit 5 v1% Wasseranteil hergestellt. Eine Multiplikation des Volumenbruchs mit der Dichte ergibt das Volumen der Vesikel in der Lösung in mg/mL. Für Span 80-Vesikel konnte kein Viskositätsunterschied gemessen werden. Es wurde ein Wert von $\Delta\eta = 0.005$ mPa·s angenommen. Dies deutet daraufhin, dass nicht alle Emulsionstropfen in Vesikel umgewandelt wurden, da für einen vollständigen Transfer aller Tropfen in Vesikel ein Wert von $\Delta\eta = 0.04 - 0.1$ mPa·s erwartet wurde. Auf der Grenzfläche wurde ein weißer Film beobachtet, der zeigte, dass einige Wassertropfen in der Ölphase als dichtgepackte Struktur auf der Grenzfläche verbleiben. Bei Lösungen von AOT-Vesikeln wurden in der Regel höhere Volumenbrüche gemessen und berechnet, als allein aufgrund des Phasentransfers der Emulsionstropfen möglich gewesen wäre. Dies ist auf die leichte Wasserlöslichkeit dieses Tensids zurückzuführen.

Um die Gesamtanzahl der Vesikel in der Lösung zu berechnen, wird das Volumen eines Vesikels näherungsweise mit der folgenden Formel berechnet

$$V_{Vesikel} = \frac{4}{3} \pi R_h^3 \quad (4.2)$$

Hierbei wird der mittels dynamischer Lichtstreuung gemessene hydrodynamische Radius verwendet. Um einen Großteil der Vesikel oder Mizellen zu berücksichtigen, wird die anzahlgewichtete Größenverteilung zu Grunde gelegt, die in der Regel nur eine Größe aufwies. Die Gesamtanzahl der Vesikel in der Lösung ergibt sich damit durch Division des Gesamtvolumens durch das Einzelvolumen.

Zur Berechnung der für die ZIMM-Plot-Messung notwendigen Tensidkonzentration der Vesikel wird die Aggregationszahl der Vesikel oder Mizellen nach folgenden Formeln berechnet

$$N_{Vesikel} = 4\pi \frac{R_h^2 + (R_h + \delta)^2}{a_0} \quad (4.3)$$

$$N_{Mizellen} = 4\pi \frac{R_h^2}{a_0} \quad (4.4)$$

4 Ergebnisse

mit R_h dem hydrodynamischen Radius, δ der Membrandicke und a_0 der Kopfgruppengröße. Auch hier wurde der hydrodynamische Radius der anzahlgewichteten Größenverteilung verwendet. Für Partikel mit einem Durchmesser $d_h > 100$ nm wurde die Aggregationszahl von Vesikel berechnet. Für Partikel mit einem Durchmesser $d_h < 100$ nm wurde die Aggregationszahl von Mizellen berechnet. Da die Kopfgruppengröße für z.B. AOT nicht mithilfe von π/A -Isothermen aufgrund der Wasserlöslichkeit bestimmt werden konnte (vgl. Abb. 4.25), wurde der Wert auf 5 \AA^2 geschätzt.

Durch Umrechnung der Aggregationszahl mit der AVOGADRO-Konstante N_A und dem Molekulargewicht des Tensids M_w kann die Tensidkonzentration für ein Vesikel berechnet werden. Durch Multiplikation mit der Gesamtanzahl der Vesikel erhält man die Gesamttensidkonzentration der Lösung. Die berechneten Volumenbrüche und Tensidkonzentrationen der untersuchten Vesikelsysteme finden sich in Tab. 4.5.

Tab. 4.5 Volumenbrüche, bestimmt durch Viskositätsmessungen und daraus berechnete Tensidkonzentrationen von Vesikellösungen, hergestellt durch Zentrifugation von Emulsionen und Mikroemulsionen.

System	Volumenbruch	$c_{\text{Tensid}} / \text{mg/mL}$
Emulsionen		
Span® 80, 10 mM, Dodecan	nicht definiert	0.092 ± 0.054
AOT, 10 mM, Dodecan	0.0626 ± 0.0045	10.72 ± 7.10
Mikroemulsionen		
AOT, Isooctan	0.0413 ± 0.0126	3.02 ± 0.95

Es wurden ZIMM-Plots bei mindestens 3 Konzentration und mindestens 5 Winkeln aufgenommen. Da die Auswertung nach ZIMM für Partikelgrößen unter 100 nm gilt und die Ergebnisse des Molekulargewichts und des Gyrationradius undefiniert waren, wurde die Auswertung nach BERRY (Abb. 4.28) zu Grunde gelegt.

4 Ergebnisse

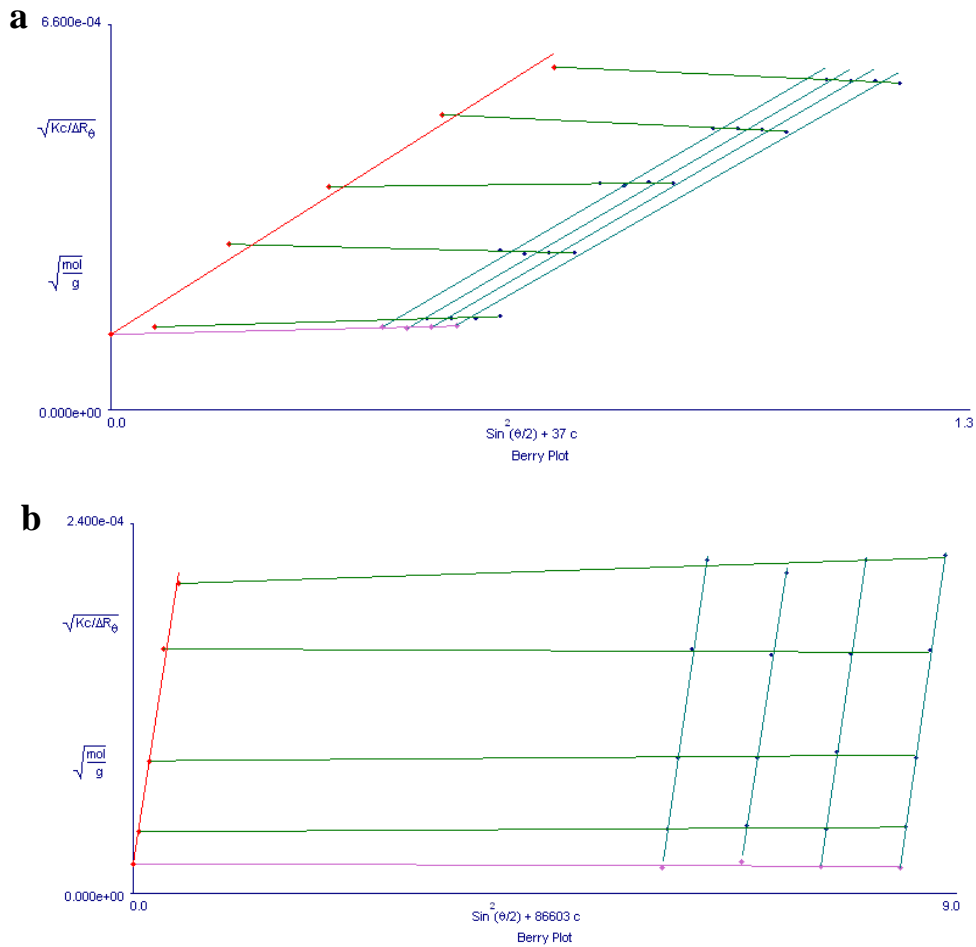


Abb. 4.28 Beispiele verschiedener BERRY-Plots hergestellt aus a)AOT und b)Span® 80 und Dodecan.

Mit Hilfe der damit erhaltenen Molekulargewichte M_W und Gyrationradien R_G und einigen geometrischen Umrechnungen lassen sich mit den folgenden beiden Gleichungen der Radius R und die Membrandicke δ der Vesikel bestimmen^[158]

$$R_G = \frac{3}{5} R^2 \frac{1 - \left(1 - \frac{\delta}{R}\right)^5}{1 - \left(1 - \frac{\delta}{R}\right)^3} \quad (4.5)$$

$$M_W = \frac{4\pi N_A}{3\nu} (3R^2\delta - 3R\delta^2 + \delta^2) \quad (4.6)$$

mit ν der Vesikeldichte. Es ergaben sich folgende Ergebnisse:

4 Ergebnisse

Tab. 4.6 Messergebnisse und berechnete Ergebnisse der statischen Lichtstreuung von Vesikelsuspensionen hergestellt aus Emulsionen und Mikroemulsionen.

System	R_G / nm	M_W / g mol ⁻¹	R/ nm	δ / nm
Emulsionen				
Span® 80, 10 mmol/L, Dodecan	360 ± 170	$1.04 \cdot 10^9 \pm 1.57 \cdot 10^9$	148.89 ± 85.37	5.49 ± 0.511
AOT, 10 mmol/L, Dodecan	184 ± 30	$3.29 \cdot 10^7 \pm 1.14 \cdot 10^7$	57.52 ± 42.84	4.26 ± 2.55
Mikroemulsionen				
AOT, Isooctan	296 ± 146	$4.10 \cdot 10^9 \pm 7.93 \cdot 10^9$	240.48 ± 55.96	8.15 ± 7.49

Die starken Unterschiede zwischen dem Gyrationradius und dem berechneten Radius weisen auf nicht-sphärische, multilamellare Vesikel oder das Vorhandensein von Mizellen neben Vesikeln hin. Alle Ergebnisse sind jedoch nur näherungsweise gültig, da die Berechnungen mit Schätzwerten für den Radius, die Membrandicke und die Kopfgruppengröße durchgeführt wurden. Um Abhängigkeiten der Membrandicken und der Lamellarität von Parametern wie der Wassermenge, des Lösungsmittels der Emulsion, usw. zu untersuchen, müssen erst mithilfe anderer Methoden (z.B. NMR und Cryo-TEM) die genaue Tensidkonzentration und der Vesikelradius bestimmt werden.

Die Membrandicken liegen im erwarteten Bereich für unilamellare Vesikel von 2-8 nm.

4.2.3 Dichtevarianz

Um Vesikel im μm -Bereich herzustellen, wurde ein Verfahren verwendet, dass bereits in der Literatur beschrieben ist^[97]. Diese Methode beruht ebenfalls auf Phasentransferprozessen, bezieht sich jedoch nur auf Phospholipide. Eine Glucosephase wurde mit einer phospholipidhaltigen Ölphase überschichtet. Anschließend wurde durch einfaches Mischen eine W/O-Emulsion hinzugegeben, deren Wassertropfen durch Saccharose eine erhöhte Dichte aufweisen. Durch die Dichtevarianz zwischen Saccharose und Glucose erfolgte ein Absinken der Tropfen durch die Grenzfläche unter Ausbildung von Vesikeln. Die Glucose der unteren Wasserphase dient dabei dem Ausgleich des osmotischen Druckes. In mehreren Experimenten wurde versucht, diese Methode auf Tenside zu übertragen. Mit AOT konnten Vesikel erfolgreich hergestellt werden. Sie bilden sich direkt unterhalb der Grenzfläche, so

4 Ergebnisse

dass das Einbringen von Öltröpfen in die Wasserphase bei Entnahme der Vesikel mit einer Pipette nicht vermieden werden konnte. Mit Hilfe des differentiellen Interferenzkontrastes konnten die Vesikel anschließend mikroskopisch auf ihre Größe hin untersucht werden und ließen sich von den mitgerissenen Öltröpfen leicht unterscheiden (Abb. 4.29). Dabei erschien bei Vesikel vor allem der Membranbereich (ähnlich einer Ringstruktur), bei Öltröpfchen die gesamte Tropfenoberfläche (ähnlich einer Kugeloberfläche) dreidimensional.

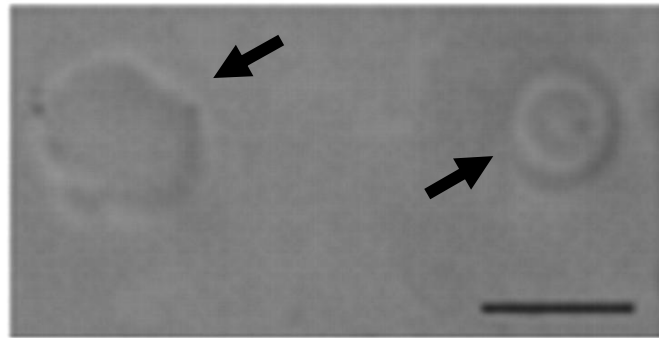


Abb. 4.29 DIC (Differentialer Interferenzkontrast)-Aufnahmen von Vesikeln, hergestellt mittels Dichtevarianz (Größenskala: 10 μm).

In zahlreichen Versuchen wurden die Größen der Vesikel im Hinblick auf den Wasseranteil der Emulsion (5, 15 und 37.5 v1%), verschiedenen Zuckerkonzentrationen (1-1000 mmol/L) und Variationen der Lösungsmittel (Dodecan, Tetradecan, Hexadecan) untersucht. Es ergaben sich ähnlich den Vesikeln, die durch Zentrifugation hergestellt wurden, mehrere Abhängigkeiten.

Die Wassermenge der Emulsion hat bei dieser Herstellungsart einen geringere Einfluss auf die Größenverteilung. Es ergeben sich für unterschiedliche Wassermengen annähernd identische Größenverteilungen mit einer Hauptgröße. Die Wartezeit für den Phasentransfer betrug

15 min. Es konnte beobachtet werden, dass für einen höheren Wasseranteil der Emulsion, die obere Ölphase eine Trübung aufwies. Die Tropfen waren noch nicht vollständig in die untere Phase gesunken. Wie bereits aufgeführt, bilden sich diese Vesikel direkt unterhalb der Grenzfläche. Dies ist auf den gleichzeitigen Phasentransfer vieler Tropfen zurück zu führen, die bei diesem Vorgang auch durch Koaleszenz eine Mindestgröße erreichen können. Es bildet sich direkt unterhalb der Grenzschicht entweder eine kondensierte Vesikelphase oder viele lamellare Phasen aus. Zweitere können durch die Strömung bei der Entnahme mit Hilfe einer Spritze zu Vesikel umgewandelt werden. Wurde der Tropfenphase ein wasserlöslicher Farbstoff (Anilinblau) hinzugegeben, konnte eine Färbung direkt unterhalb der Grenzschicht

4 Ergebnisse

in der trüben Phase beobachtet werden. Da der Farbstoff beim Vorhandensein von lamellaren Phasen in die untere Wasserphase diffundiert wäre, kann angenommen werden, dass es sich um eine kondensierte Vesikelphase handelt. Diese kondensierte Vesikelphase verhindert bzw. verlangsamt einen weiteren Phasentransfer von Tropfen. Die Emulsionstropfen stoßen an eine Barriere, die erst durchschritten werden kann, wenn andere Vesikel in die untere Wasserphase diffundieren. Für einen Wasseranteil von 15 v1% konnte dies als trübe Aggregate, die zum Boden des Zentrifugenröhrchens sanken, beobachtet werden.

Die Zuckerkonzentration hat einen bedeutenden Einfluss auf die Vesikelgröße. Mit zunehmender Konzentration der Zuckerlösungen beobachtet man eine Abnahme der Größe der Vesikel (Abb. 4.30).

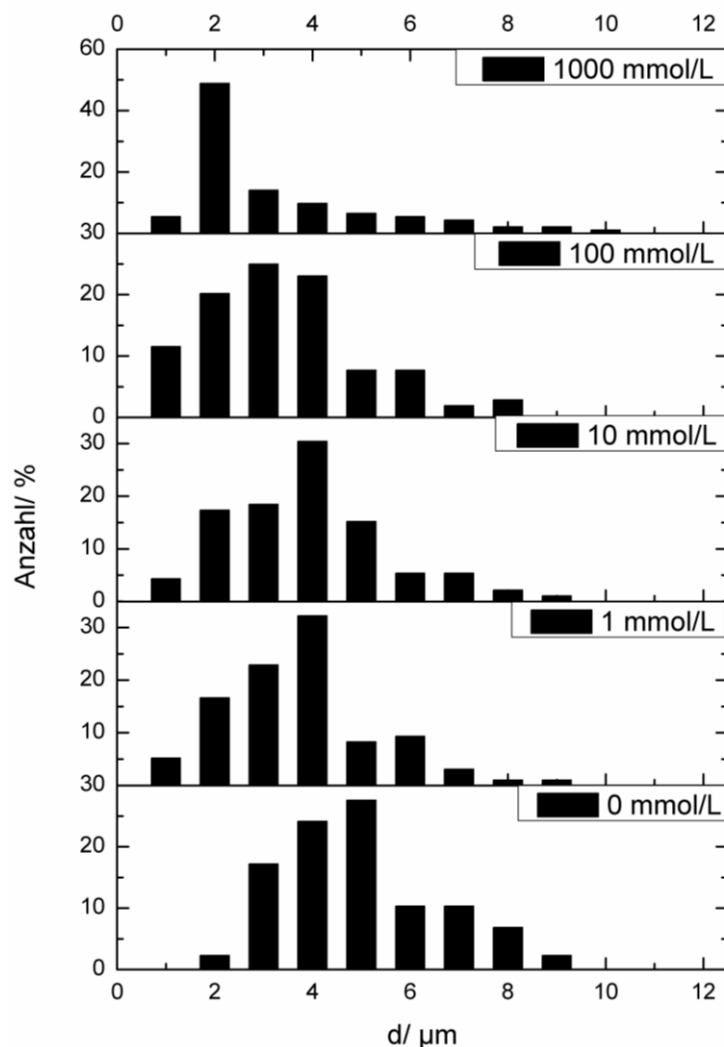


Abb. 4.30 Größenverteilungen der Vesikel hergestellt mit AOT und Tetradecan für verschiedene Zuckerkonzentrationen.

4 Ergebnisse

Zur Bestimmung der Gravitationskräfte wurden die Dichten der unterschiedlich konzentrierten Saccharose- und Glucoselösungen vermessen. Da Saccharose- und Glucoselösungen keine identische Dichte haben, bewirkt eine Zunahme der Zuckerkonzentration eine zunehmende Dichtevarianz zwischen der unteren Wasserphase und der Tropfenphase. Die Gravitationskraft ist in diesem Fall abhängig von dieser Dichtevarianz und nimmt bei gleichbleibender Tropfengröße mit steigender Zuckerkonzentration zu. Die Mindestenergie zum Ausbilden der Doppelschicht, die abhängig von der Biegesteifigkeit ist, kann für ein gewähltes System dabei als konstant angesehen werden. Diese Energie kann mit zunehmender Zuckerkonzentration von kleineren Tropfen aufgebracht werden. Die Vesikelgröße nimmt mit zunehmender Zuckerkonzentration der unteren Wasser- und der Tropfenphase ab (unter Vernachlässigung des Fehlers, der sich aus der breiten Größenverteilung ergibt).

Auch ein Zusammenhang der Vesikelgröße vom gewählten Lösungsmittel der Emulsion konnte bei Vesikeln, die durch Dichtevarianz hergestellt wurden, beobachtet werden (Abb. 4.31). Die Biegesteifigkeit einiger Lösungsmittel an der Grenzfläche mit Wasser und AOT war bekannt (Decan, Dodecan, Tetradecan^[181]). Bei Einsetzen von Decan als Lösungsmittel wurden keine Vesikel gebildet. Wie in Referenz^[182] beschrieben, ist die Kettenlänge von Decan dafür zu kurz. Das kurzkettige Molekül diffundiert in die Membran von AOT-Vesikeln und bricht diese auf. Das System einer Mikroemulsion von Decan/AOT/Wasser wird bevorzugt. Mit Dodecan, Tetradecan und Hexadecan gelang es Vesikel herzustellen.

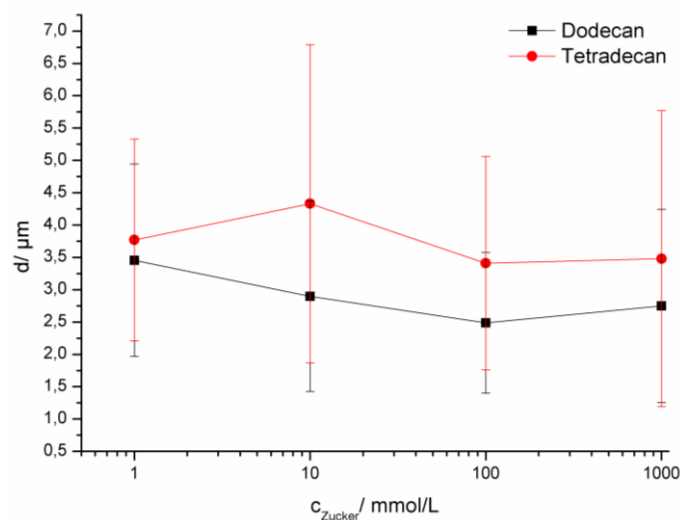


Abb. 4.31 Größen der Vesikel hergestellt mit AOT und Dodecan (schwarz) bzw. Tetradecan (rot) für verschiedene Zuckerkonzentrationen.

4 Ergebnisse

Bei gleicher Tropfengröße sowie Zuckerkonzentration bzw. Dichteverianz ergibt sich eine konstante Gravitationskraft. Aufgrund der unterschiedlichen Biegesteifigkeiten der Grenzschichten zu Dodecan und Tetradecan ergeben sich unterschiedliche Energien zum Aufbau einer Doppelschicht. Diese werden in der Gravitationskraft durch unterschiedliche Tropfengrößen bereitgestellt. Vesikel, hergestellt mit Hexadecan als Lösungsmittel, weisen eine kleinere Größe im Gegensatz zu Vesikel aus AOT und Dodecan/ Tetradecan auf (Abb. 4.32). Die Biegesteifigkeit dieses Systems ist nicht bekannt, kann aber aufgrund der Daten in ^[181] als kleiner verglichen mit der Grenzflächen Wasser/Tetradecan angenommen werden. Somit kann eine leichte Abnahme der Vesikelgröße mit zunehmender Kettenlänge, Viskosität und Dichte des Lösungsmittels beobachtet werden.

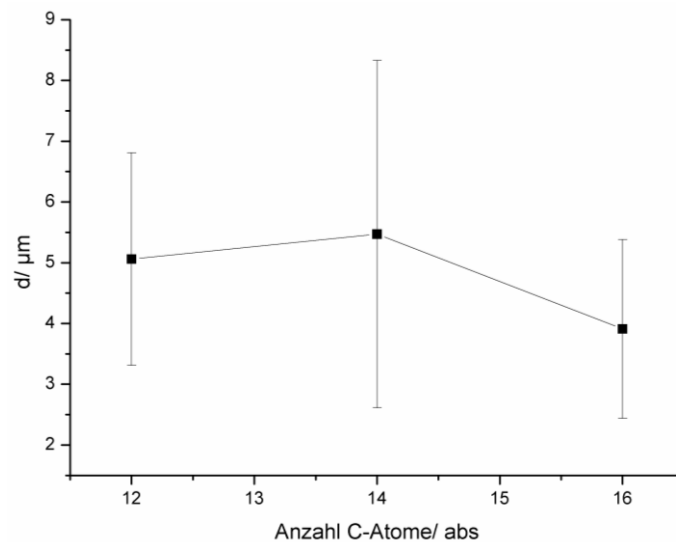


Abb. 4.32 Abhängigkeit der Größe der AOT-Vesikel, hergestellt mittels Dichteverianz (0 mmol/L) vom Lösungsmittel der Emulsion.

Bei allen durch Dichteverianz hergestellten Vesikel konnte mittels Phasenkontrast-Mikroskopie kein Öl in der Membran nachgewiesen werden.

Mit anderen Tensiden wie z.B. Span® 80 konnten keine Vesikel erzeugt werden. Die Wassertropfen blieben in der Ölphase auf der Grenzfläche liegen und bildeten eine dicht gepackte Struktur aus (Abb. 4.33).

4 Ergebnisse

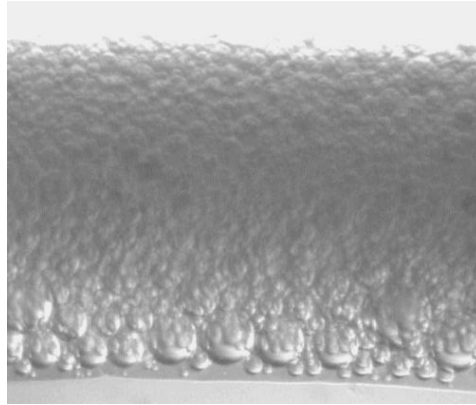


Abb. 4.33 Long-distance Mikroskopie Aufnahme der dicht gepackten Struktur der mit Span® 80 stabilisierten Tropfen an der Grenzfläche.

Im Vergleich dazu zeigten Wassertropfen in einer Ölphase mit AOT eine starke Deformation an der Grenzfläche und keine Ausbildung einer Sedimentationszone (Abb. 4.34). Jeder Tropfen sank unter Ausbildung eines Vesikels oder Koaleszenz in die untere Wasserphase.

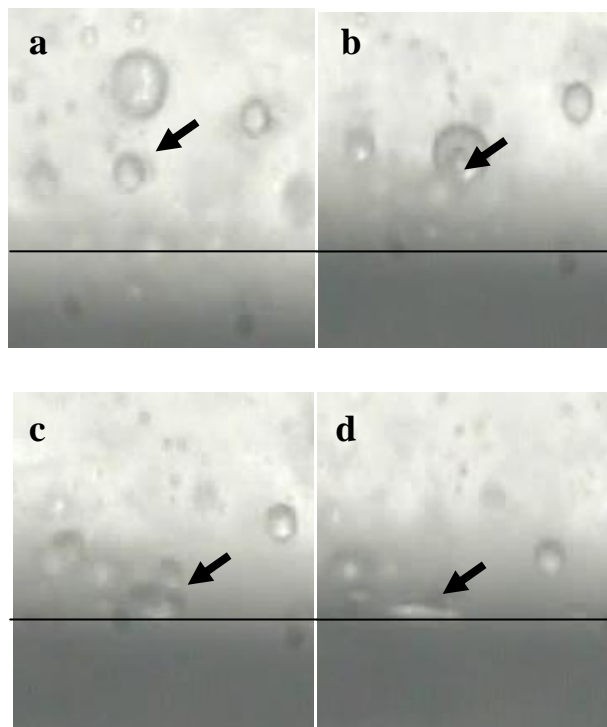


Abb. 4.34 Long-distance Mikroskopie-Bilder der Deformation eines Wassertropfens stabilisiert mit AOT im Verlauf der Sedimentation und Koaleszenz mit der unteren Phase. Zunahme der Zeit von a nach d ($\Delta t_{\text{jeweils}} \approx 0.5 - 1$ s). Der Verlauf der Grenzfläche ist eingezeichnet.

Eine mögliche Erklärung für dieses Verhalten kann in der Tropfengröße begründet liegen, die nicht ausreicht um die Energie zur Ausbildung einer Doppelschicht aufzubringen.

4 Ergebnisse

Die dicht gepackte Tropfenzone bei Stabilisierung mit Span® 80 weist auch darauf hin, dass hier ein anderer Koaleszenz-/ Sedimentationsmechanismus zugrunde liegt als bei einer Emulgierung mit AOT. Die Vesikelbildung scheint begünstigt zu sein, wenn die Tropfen bereits in der Wasserphase nicht zu stark stabilisiert sind und in der Ölphase miteinander koaleszieren können. Dies wird anhand der Ergebnisse der Vesikel, hergestellt mittels Zentrifugation unterstützt. Die mit AOT hergestellten Vesikel wiesen eine höhere Konzentration und eine größere Abhängigkeit von Koaleszenzprozessen (Wassermenge und Lösungsmittel) auf.

Es ist weiterhin möglich, dass die Struktur der Tenside (und damit einhergehend ein Packungsparameter von $p < 1/2$) verhindert, dass sich diese Doppelschichten ausbilden. Durch die Zugabe des Membransubstrates DCP (Dihexadecylphosphat) war es auch mit Span® 80 möglich Vesikel durch Dichtevarianz herzustellen. Dies unterstützt die These, dass der Packungsparameter der Tenside für Phasentransferprozesse im für Vesikel geeigneten Bereich liegen sollte (vgl. Abschnitt 2.3). Auch mit reinem DCP gelang die Herstellung von Vesikeln mittels Dichtevarianz. Die erhaltenen Größenverteilungen sind in Abb. 4.35 dargestellt. Die leichte Verschiebung der Größenverteilung für Span® 80/ DCP-Vesikel deutet auf den Einbau von Span® 80 und DCP in die Vesikelmembran hin. Aufgrund der schnellen Sedimentation und Koaleszenz konnte mikroskopisch nicht nachgewiesen werden, ob eine Deformation der Tropfen an der Grenzfläche eintritt. Es bildete sich keine Sedimentationszone von dicht gepackten Tropfen aus.

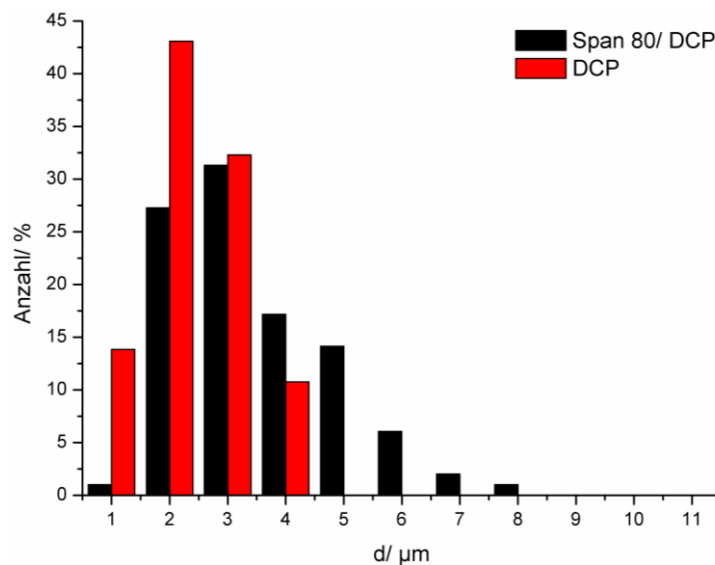


Abb. 4.35 Vergleich der Größenverteilungen der Vesikel hergestellt mittels Dichtevarianz mit Span® 80/ DCP und reinem DCP (Zuckerkonzentration: 0 mmol/L).

4 Ergebnisse

Mit anderen Tensiden wie SDS oder Phospholipiden konnten keine ausreichend stabilen Emulsionen erzeugt werden. Die Tropfen dieser Tensidfilme wurden nicht genügend in der Ölphase stabilisiert und koaleszierten auf der Grenzfläche miteinander und mit der unteren Wasserphase, so dass keine Vesikel ausgebildet wurden.

4.2.4 Strömungsapparaturen

Um höhere Mengen an Vesikel in kurzer Zeit kontinuierlich herzustellen zu können, wurde eine Strömungsapparatur entwickelt werden. Im Folgenden sollen zwei Apparaturen und deren Ergebnisse dargestellt werden, mit denen es möglich ist Vesikel herzustellen.

In der ersten Apparatur erfolgt ein strömungsinduzierter Transport der Wassertröpfchen durch die Öl/Wasser-Grenzschicht. Um eine möglichst geringe Bildung von Emulsionstropfen zu haben, wurde die in Abb. 4.36 gezeigte Apparatur entwickelt.

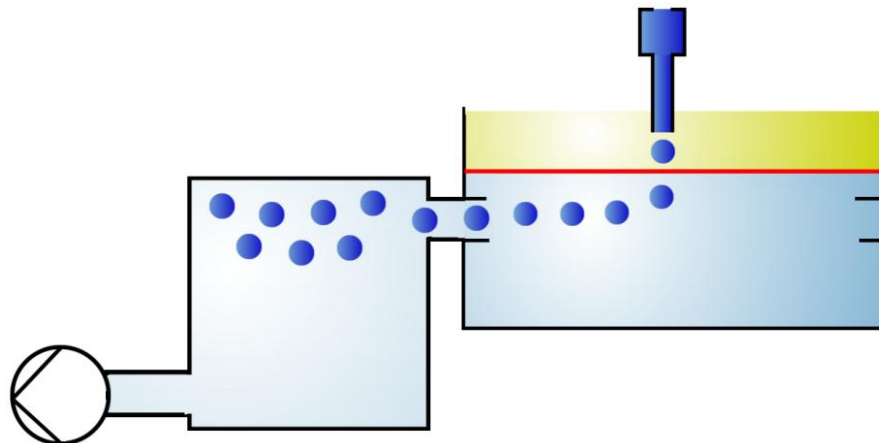


Abb. 4.36 Vesikelbildung mit Wasserströmung und Auffangbehälter.

Der Ausfluss aus der Spritzenkanüle erzeugt eine starke Tropfenbewegung, so dass die Wassertropfen die Grenzfläche direkt durchdringen können und die sich dabei ausbildenden Vesikel in die Wasserphase abtauchen. Eine zweite Wasserströmung wird lateral angelegt um die Vesikel in einen Auffangbehälter abzutransportieren. Diese Methode kann nur für öllösliche Tenside angewendet werden. Tropfen mit wasserlöslichen Tensiden zerfallen sobald sie in Kontakt mit der Grenzfläche kommen. Eine Erhöhung der Tensidkonzentration zum Erreichen einer schnelleren Adsorptionskinetik könnte dies eventuell verhindern. Beim Durchdringen der Grenzschicht wurden weiterhin Öltropfen mitgerissen, so dass neben den Vesikeln auch eine O/W-Emulsion entstand. Die auf diese Art hergestellten Vesikel waren sehr groß (1-3 mm) und enthielten häufig Öllinsen in ihren Membranen. Einige Beispiele von

4 Ergebnisse

Vesikeln, die mit öllöslichen Tensiden hergestellt wurden, sind in Abb. 4.37 zu sehen. Die helleren Stellen am Rand der Vesikel deuten auf in die Membran eingeschlossene Öllinsen hin.

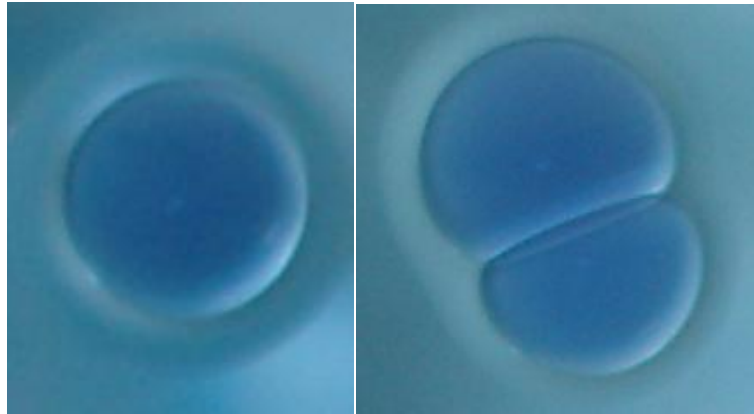


Abb. 4.37 Vesikel hergestellt mit der Strömungsapparatur aus Abb. 4.37 (Größenordnung der Vesikel: 1-3 mm).

Untersuchungen mit dem öllöslichen Tensid Span® 80 ergaben für die Apparatur folgende Zusammenhänge:

- Es ist eine Mindest-Absauggeschwindigkeit erforderlich, da die Vesikel sonst zur Grenzfläche aufräumen. Es werden jedoch mit zunehmender Geschwindigkeit auch vermehrt Öltropfen mitgerissen.
- Es ist eine Mindest-Zutropfgeschwindigkeit notwendig, da die Tropfen sonst auf der Grenzfläche liegen bleiben. Das Zutropfen muss stoßweise erfolgen und die Geschwindigkeit muss der Adsorptionskinetik angepasst werden.
- Es muss eine Mindestkonzentration an Tensiden eingesetzt werden, damit die Tropfen an der Grenzfläche nicht zerfallen. Es gibt eine Höchstkonzentration an Tensiden, bei der es noch möglich ist, die Tropfen in die Wasserphase zu stoßen. Bei zu hohen Konzentrationen lösen sich die Tropfen aufgrund der geringen Grenzflächenspannung bereits ohne Spritzenpumpe von der Kapillare.

Es war mit dieser Apparatur nicht möglich kleinere Vesikel zu erzeugen. Kleinere Wassertropfen brachten nicht die benötigte Kraft zum Phasentransfer auf. Die großen Vesikel wiesen aufgrund ihrer Größe ($d > 2$ mm) und der eingeschlossenen Öllinsen nur eine geringe Stabilität auf.

4 Ergebnisse

Da es sich als schwierig erwies mittels Strömung ausreichend kleine Tropfen ($d = 1-10\mu\text{m}$) zu erzeugen ^[183,184,185,186] um kleiner Vesikel herzustellen, beruht die zweite entwickelte Apparatur auf dem Prinzip des Electro-Sprays und ist in Abb. 4.38 dargestellt.

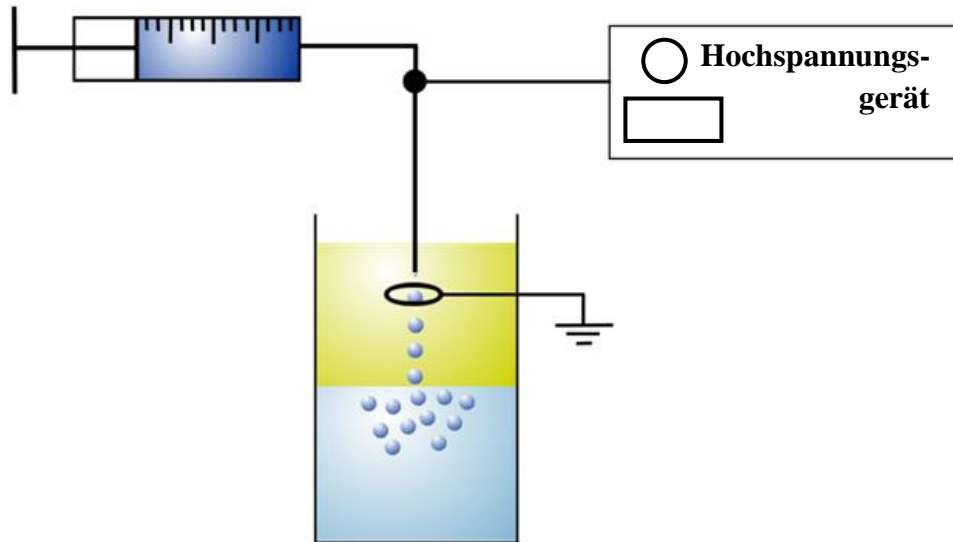


Abb. 4.38 Schematische Darstellung der Electro-Spray-Apparatur zur Vesikelbildung.

In dieser Apparatur wird eine Spritze mit der wässrigen Phase gefüllt. An die Spritzenkanüle kann eine elektrische Spannung von ca. 1-5 kV angelegt werden. Aufgrund der Grenzflächenspannung versucht das System, eine möglichst kleine Grenzfläche an der Kanülenspitze zu erzeugen. Der angelegte Volumenstrom sorgt dafür, dass sich ein TAYLOR-Kegel ausbildet, von dem kontinuierlich kleine Tropfen abreißen. Als Gegenelektrode dient eine Ringelektrode, zu der die kleinen Tropfen im elektrischen Feld wandern. Experimentell wurde die Wasserphase bis knapp unter die Ringelektrode gefüllt, da ein Anbringen der Ringelektrode in der Wasserphase zu starken Stromschwankungen führte. Die Ölphase wurde darüber geschichtet und die Spritzenkanüle in die Ölphase getaucht. Die Tropfen konnten durch den Ring und die Grenzfläche sinken und dabei durch Phasentransferprozesse Vesikel ausbilden. Die Tropfengröße ist beim Electro-spray abhängig von Volumenstrom und der angelegten Spannung.

Um die so erhaltenen Tropfengrößen abschätzen zu können, wurden zunächst Wassertropfen in Olivenöl generiert. In der Ölphase war das Tensid AOT (15 mmol/L) gelöst. Die hohe Dichte des Olivenöls verringerte die Koaleszenzgeschwindigkeit. Die Größenverteilung der Wassertropfen war sehr breit und lag im Bereich zwischen 1 und 20 μm (Abb. 4.39). Die Dimensionen der Wassertropfen wurden mikroskopisch untersucht. Es zeigte sich wie

4 Ergebnisse

erwartet eine Abnahme der Tropfengröße mit abnehmendem Volumenstrom und steigender Spannung.

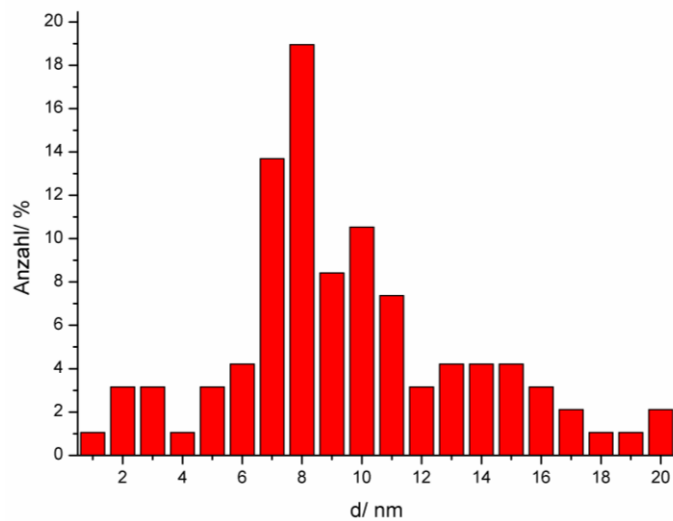


Abb. 4.39 Größenverteilung der Emulsion des Systems TBS-Puffer, Olivenöl/AOT, gebildet mit Hilfe eines Electro-Sprays (5kV, 2 mL/h).

Mit dem System TBS-Puffer, Dodecan/AOT gelang es anschließend Vesikel zu erzeugen (Abb. 4.40).

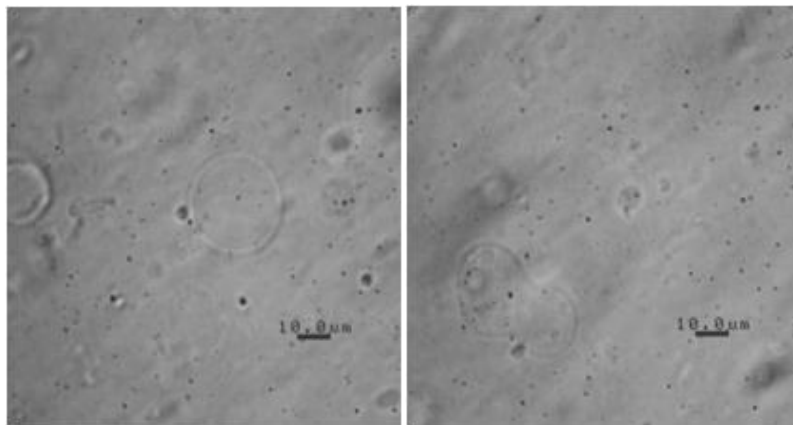


Abb. 4.40 DIC-Aufnahmen der AOT-Vesikel hergestellt mithilfe der Electro spray-Apparatur.

Die Emulsionstropfen sanken durch die Grenzfläche unter Ausbildung von Vesikeln, ohne dass weitere Zusätze wie z.B. Zucker notwendig waren. Die Ausbildung der Vesikel erfolgte innerhalb weniger Minuten. Es bildeten sich aufgrund des NaCl^[33,187] auch Vesikel beim Überschichten einer Puffer- mit einer Ölphase ohne den Phasentransfer von Tropfen. Derartige Phänomene konnten jedoch erst nach ca. 1h beobachtet werden. Der Einbau eines wasserlöslichen Farbstoffs (Anilinblau) bestätigte weiterhin die Bildung von Vesikeln durch Phasentransferprozesse innerhalb weniger Minuten. Eine weitere Herausforderung war auch

4 Ergebnisse

hier die Vermischung der Phasen beim Überschichten der Wasserphase durch Öl. Es konnte sich aufgrund der geringen Grenzflächenspannung eine W/O-Emulsion ausbilden, deren Tropfen beim Durchtritt durch die Grenzfläche ebenfalls Vesikel ausbildeten.

Der Transport der Emulsionstropfen zur Grenzfläche erfolgt bei der Electrospray-Apparatur durch 2 Einflüsse. Zum einen wirkt wie bei den Vesikel hergestellt durch Dichtevarianz die Gravitationskraft, zum anderen erfahren die Tropfen eine Beschleunigung aufgrund des elektrischen Feldes. Unter Annahme eines sehr kleinen Zeta-Potentials kann mithilfe von Gleichung 3.31 die Mobilität der Tropfen berechnet werden. Die Multiplikation mit der elektrischen Feldstärke ergibt die Geschwindigkeit der Tropfen. Diese Geschwindigkeit liegt im Bereich von $1 \cdot 10^{-2} \text{ mm s}^{-1}$. Die über die Masse der Tropfen (Dichte, Volumen) sowie die berechnete Geschwindigkeit ermittelte kinetische Energie der Tropfen aufgrund des elektrischen Feldes liegt im Bereich von $E_{\text{kin}} \sim 2 \cdot 10^{-25} \text{ J}$. Ein Vergleich mit der potentiellen Energie (Gravitationsenergie), die sich mit Hilfe der Dichtevarianz, der Gravitationskonstanten und dem Tropfenradius ergibt, zeigt einen Größenunterschied von etwa 5 Dekaden: $E_{\text{pot}} \sim 2 \cdot 10^{-20} \text{ J}$. Der Einfluss des elektrischen Feldes auf den Phasentransfer der Tropfen kann somit vernachlässigt werden.

Die Erzeugung der Tropfen an einer Kapillare sorgt für ein kontinuierliches Absinken der Tropfen, die mit einem langsamen Volumenstrom an der Kapillare erzeugt werden. Anders als bei der Herstellung mittels Dichtevarianz erfolgen eine kontinuierliche Herstellung und ein kontinuierliches Absinken der Tropfen zur Grenzfläche hin. Es wird keine kondensierte Vesikelphase unterhalb der Grenzfläche beobachtet, sondern eine komplette Trübung der unteren Wasserphase. Wird der Volumenstrom so hoch gewählt, dass eine Emulsion in der oberen Ölphase gebildet wird, sinken die restlichen Tropfen nach Abschalten des elektrischen Feldes ähnlich der Vesikelherstellung mithilfe der Dichtevarianz in die untere Wasserphase.

Untersucht wurden bei diesen Vesikeln weiterhin die Abhängigkeit von der Zutropfmenge, dem Lösungsmittel, der Zutropfgeschwindigkeit und der angelegten Spannung.

Eine Variation der Zutropfmenge zeigte, dass sich mit zunehmender Wassermenge vermehrt größere Vesikel bildeten (Abb. 4.41).

4 Ergebnisse

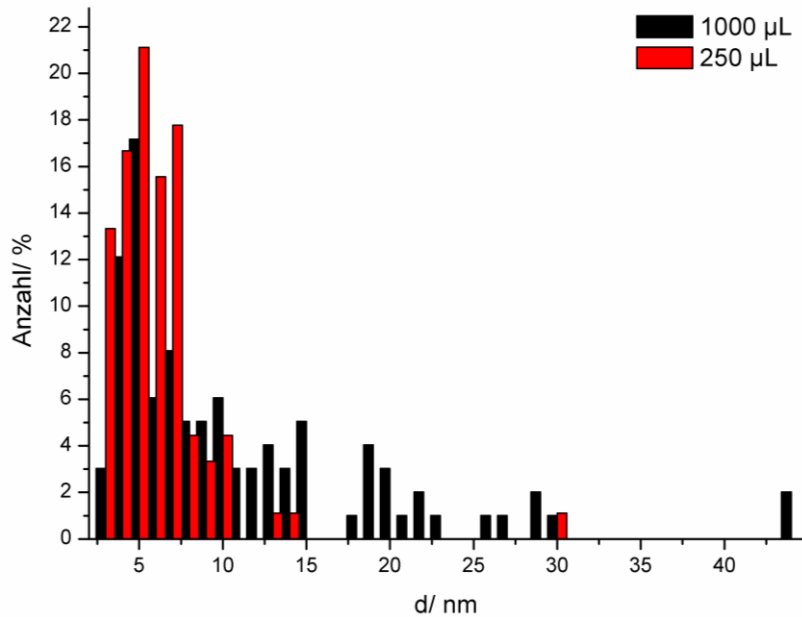


Abb. 4.41 Vergleich der Größenverteilungen für AOT-Vesikel hergestellt mithilfe der Electro spray-Apparatur für unterschiedliche Zutropfmengen.

Diese Beobachtung lässt sich durch den Anstieg der Koaleszenz bei erhöhter Tropfenanzahl erklären. Die fusionierten Tropfen bildeten dementsprechend größere Vesikel aus. Da die Tropfen kontinuierlich erzeugt werden und durch die Grenzfläche sinken, ist dies im Vergleich zur Herstellung mittels Dichtevarianz möglich. Wie oben beschrieben, bildet sich keine kondensierte Vesikelphase aus, die als Barriere für den weiteren Phasentransfer dient. In der folgenden Tab. 4.7 ist die Anzahl der Vesikel über $d = 15 \mu\text{m}$ in Abhängigkeit der Wassermenge dargestellt.

Tab. 4.7 Vergleich der Größenverteilungen für AOT-Vesikel hergestellt mithilfe der Electro spray-Apparatur für unterschiedliche Zutropfmengen.

Zutropfmenge/ μL	Anzahl AOT-Vesikel
250	1
500	13
1000	19

Die Variation des Lösungsmittels führte mit ansteigender Alkylkettenlänge zur Bildung von kleineren Vesikeln mit einer insgesamt schmalleren Größenverteilung (Abb. 4.42).

4 Ergebnisse

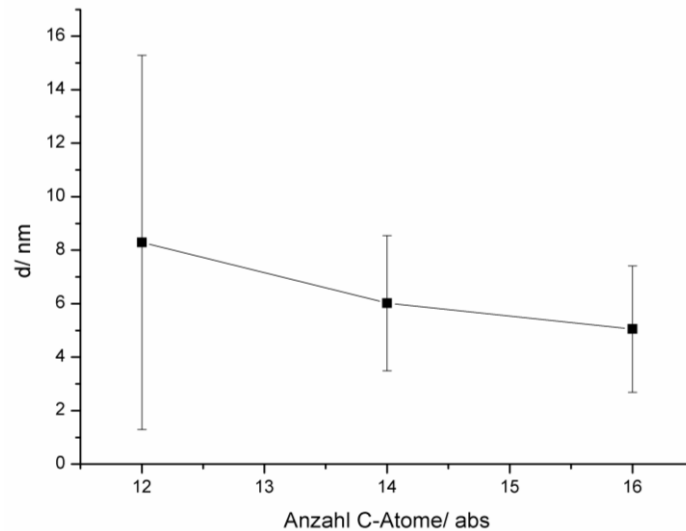


Abb. 4.42 Vergleich der mittleren AOT-Vesikelgröße hergestellt mithilfe der Electrospray-Apparatur für unterschiedliche Lösungsmittel.

Dieses Phänomen hängt zum einen mit der Viskosität der Lösungsmittel zusammen, kann aber auch mit der Änderung der Biegesteifigkeit für verschiedene Grenzflächen erklärt werden. Eine Änderung der Biegesteifigkeit führt zu einer Änderung der Mindestenergie, die benötigt wird um eine Doppelschicht auszubilden. Wie bei den anderen Herstellungsmethoden sorgen somit unterschiedliche Tropfengrößen für eine passende Gravitationsenergie, die eine Ausbildung einer Doppelschicht und damit den Phasentransfer ermöglicht.

Die Ergebnisse der Variation der Zutropfgeschwindigkeiten lassen vermuten, dass mit zunehmender Zutropfgeschwindigkeit und damit zunehmender Tropfengröße die Anzahl der gebildeten μm -große-Vesikel geringer wird. Dies konnte mit Viskositätsmessungen bisher nicht bestätigt werden. Da die großen Tropfen an der Grenzfläche unter Ausbildung von kleineren nm-großen-Vesikel zerfallen, kann die Anzahl der μm -Vesikel aus rheologischen Daten nicht berechnet werden. In weiteren Experimenten wurde die Zutropfgeschwindigkeit so gewählt, dass die Tropfen direkt in die untere Wasserphase sanken ohne eine komplette Trübung der oberen Ölphase hervorzurufen. Es konnte keine Emulsion gebildet. Mikroskopische Aufnahmen zeigen, dass keine Vesikel im μm -Bereich gebildet wurden, jedoch lassen sich leicht Strukturunebenheiten erkennen (Abb. 4.43).

4 Ergebnisse

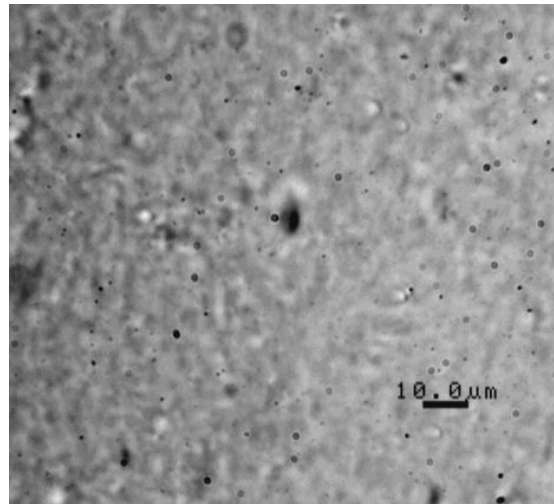


Abb. 4.43 Mikroskopie-Aufnahme einer AOT-Vesikellösung, hergestellt mithilfe der Electro spray-Apparatur bei sehr kleinem Volumenstrom (0.1 mL/h, Größenskala: 10 µm).

Messungen der dynamischen Lichtstreuung nach Aufreinigung der Probe mittels Ultrazentrifugation lassen vermuten, dass Vesikel im nm-Bereich entstanden sind (Abb. 4.44).

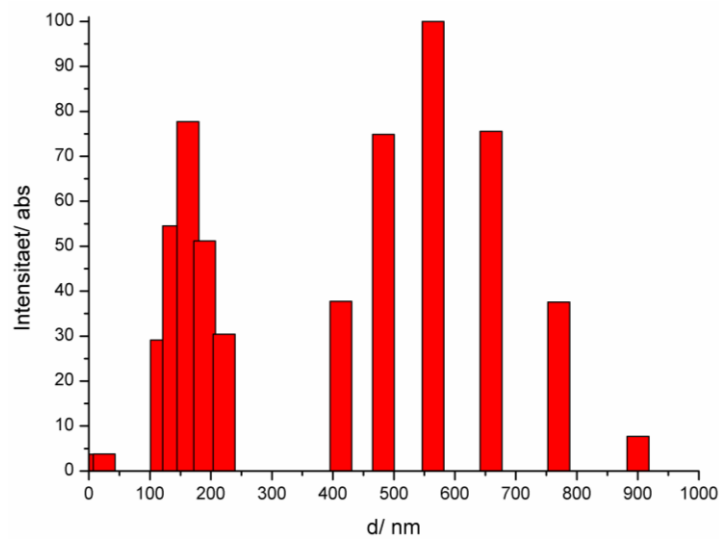


Abb. 4.44 Größenverteilung einer AOT-Vesikellösung, hergestellt mithilfe der Electro spray-Apparatur bei sehr kleinem Volumenstrom (0.1 mL/h), gemessen mittels dynamischer Lichtstreuung.

Eine Variation der Spannung (0.5-2 kV) zeigte keine signifikante Änderung in der erhaltenen Größenverteilung. Da mit AOT als Tensid bereits eine Spannung von 1 kV zur Emulsionsbildung ausreicht, wurde nur eine Erhöhung der Spannung (im Bereich von 1-3 kV) untersucht. Es wurden somit kleinere Tropfen erzeugt, die jedoch koaleszierten und eine ähnliche Größenverteilung an Vesikeln erzeugten wie größere Tropfen, die bei 1 kV erzeugt wurden. Es kann davon ausgegangen werden, dass eine Verringerung der Spannung einen ähnlichen Einfluss wie die Erhöhung der Zutropfgeschwindigkeit hat.

4 Ergebnisse

Weitere Tensidarten wurden ebenfalls im Hinblick auf die Vesikelbildung untersucht. Mit Phospholipiden konnten ebenfalls Vesikel hergestellt werden. Hierbei zeigte sich, dass die mit DLPC gebildeten Vesikel kugelförmig waren, die mit DMPC gebildeten wiesen komplexere Strukturen auf (Abb. 4.45).

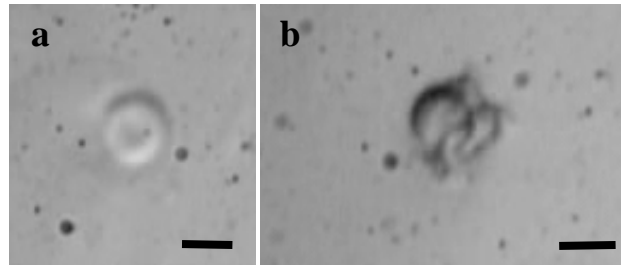


Abb. 4.45 DIC-Mikroskopie-Aufnahme von DLPC (a)- und DMPC (b)-Vesikeln, hergestellt mithilfe der Electrospray-Apparatur (Größenskala: 10 μm).

Dies ist auf die Phasenübergangstemperatur der beiden Phospholipide zurück zu führen (DLPC: -2.1°C , DMPC: 23.9°C ^[68]). Da die Electrospray-Apparatur keine Temperatureinheit besitzt, können Vesikel nur bei Raumtemperatur hergestellt werden. DLPC und daraus gebildete Doppelschichten sind bei RT in einem fluiden Zustand (vgl. Abb. 2.7), in dem es leicht ist sphärische Vesikel herzustellen. DMPC und dessen Doppelschichten sind bei RT hingegen in einem kristallinen Zustand (vgl. Abb. 2.7). Die Beweglichkeit der Moleküle ist stark eingeschränkt, so dass es sehr viel schwieriger ist, Vesikel herzustellen. Die Größenverteilung von DLPC-Vesikeln ist in Abb. 4.46 dargestellt.

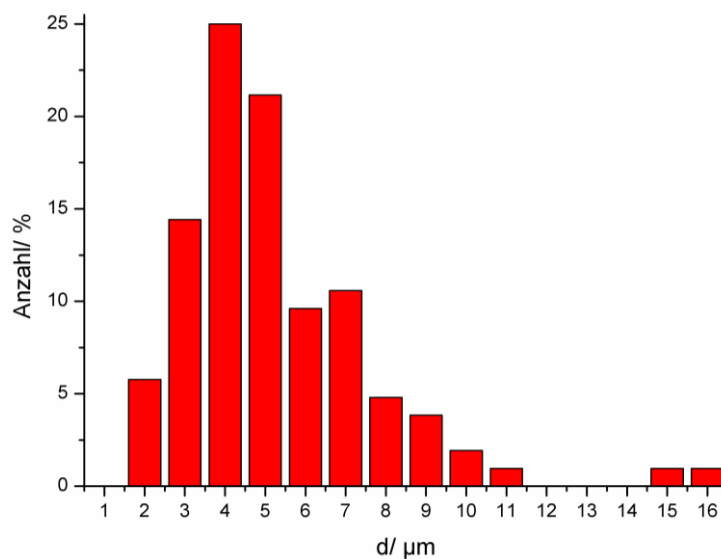


Abb. 4.46 Größenverteilung der DLPC-Vesikel, hergestellt mithilfe der Electrospray-Apparatur.

4 Ergebnisse

Auch bei diesem Amphiphil ist zu beobachten, dass nach einer gewissen Zeit auch ohne Phasentransfer von Tropfen Vesikel gebildet werden. Da bei Phospholipiden generell eine längere Adsorptionskinetik zu Grunde gelegt wird, wurde ca. 2h nach dem Überschichten und vor der Emulsionsbildung auf eine vollständige Belegung der Grenzfläche mit Lipiden gewartet. Es müssen weitere (in Abschnitt 4.3 beschriebene) Untersuchungen durchgeführt werden um zu klären, ob diese Vesikel durch Phasentransferprozesse gebildet wurden.

Bei allen bisher beschriebenen Vesikeln, die mithilfe der Electrospray-Apparatur hergestellt wurden, zeigte die Phasenkontrast-Mikroskopie, dass kein Öl in die Membran eingebaut wurde.

Mit Tensiden wie Span® 80 gelang die Vesikelbildung nicht ohne Zusätze. Mit Additiven wie PEG 400 ^[188] oder Dihexadecylphosphat ^[189,190] konnte der Packungsparameter variiert werden. Es war dann auch mit nicht-ionischen Tensiden möglich, Vesikel mithilfe der Electrospray-Apparatur zu erzeugen (Abb. 4.47), wobei aufgrund unterschiedlicher Löslichkeiten andere Lösungsmittel verwendet wurden (PEG 400: p-Xylol, Dihexadecylphosphat: Heptan/Ethanol).

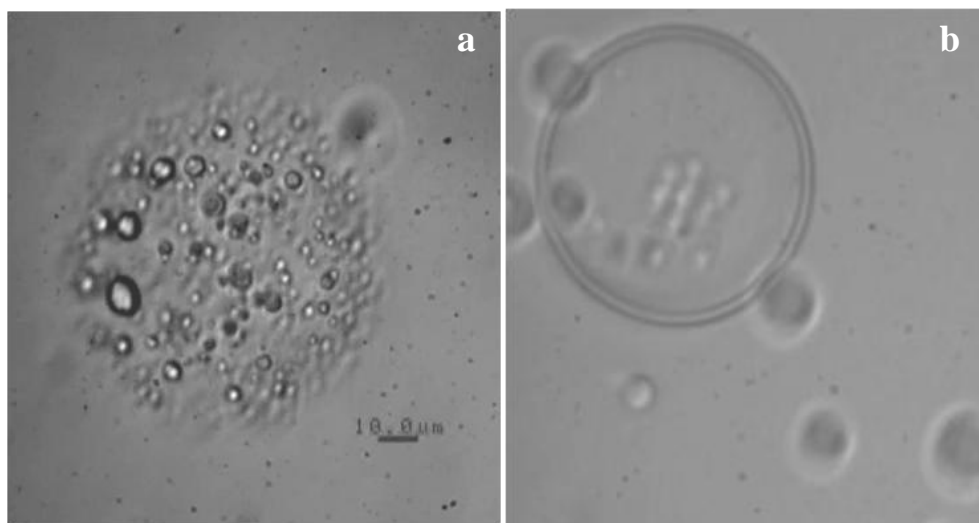


Abb. 4.47 DIC-Mikroskopie-Aufnahmen von Span® 80-Vesikel, hergestellt mithilfe der Electrospray-Apparatur. Zusätze a) PEG 400, b) DCP (Größenskala: 10 μm).

Bei einem Zusatz von PEG 400 konnten wie auch in Abb. 4.47a) zu sehen Ölseln auf den Vesikel gefunden werden. Dies bestätigt den in der Literatur ^[188] gefundenen Bildungsmechanismus. Das PEG 400 legt sich dabei als Stabilisator an die Doppelschicht an und verankert sich an verschiedenen Stellen in der Membran. Diese Vesikel konnten nur beobachtet werden, wenn das PEG 400 mit in der Ölphase vorlag. Liegt das PEG 400 in der

4 Ergebnisse

Wasserphase vor, lagert sich das Span® 80 vermutlich bereits so dicht an die Grenzfläche an, dass keine Verankerung der Polymere in der Membran mehr möglich ist. Diese Vesikel sind sehr instabil und wachsen innerhalb weniger Tage zu großen, mit dem Auge sichtbaren, kugelförmigen Partikeln an. Die weiße Färbung dieser großen Vesikel kommt dabei vermutlich vom Lösungsmittel und dem Polymer. Die Instabilität der Vesikel kann auf das Verdampfen des Lösungsmittels zurückgeführt werden. Das PEG 400 kommt dabei in Kontakt mit der Wasserphase und diffundiert aufgrund des Konzentrationsunterschiedes in die wässrige Phase. Da dadurch weniger PEG 400-Moleküle zur Stabilisierung beitragen, wachsen die Vesikel an. Dieser Diffusions- und Wachstumsprozess verläuft solange bis keine Stabilisierung mehr möglich ist und die Vesikel zerstört werden. Das Einbringen von PEG 400 in die Öl- und Wasserphase führt vermutlich zu einer Stabilisierung der Vesikel führen. Aufgrund der Ölneln und den daraus resultierenden nicht-sphärischen Vesikeln wurde keine Größenverteilung bestimmt.

Auch mit DCP als Zusatz lassen sich Vesikel herstellen. Hierbei konnte beobachtet werden, dass ähnlich wie bei AOT ein Puffer-System die Vesikelbildung erleichtert. Eine mögliche Erklärung hierfür ist die negative Ladung der Kopfgruppe von DCP. Auch hier kann das Salz im gewählten Puffersystem eine Änderung der Kopfgruppengröße von DCP bewirken, so dass eine leichtere Herstellung von Vesikeln mit Span® 80 gegeben ist. DCP bildet auch ohne das Vorhanden sein von Span® 80 im Puffersystem durch Phasentransfer Vesikel aus.

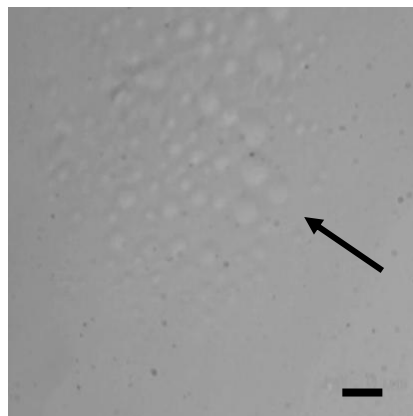


Abb. 4.48 DIC-Mikroskopie-Aufnahme von DCP-Vesikeln, hergestellt mit Hilfe der Electrospray-Apparatur (Größenskala: 10 µm).

DCP-Vesikel neigen bei Anwesenheit von Salz zum Ausbilden von Aggregaten (Abb. 4.48). Durch attraktive Wechselwirkungen, die auf kurze Distanzen innerhalb der Doppelschicht wirken erhöht sich die Mobilität einzelner Moleküle, die aufgrund der begünstigten Aggregation in den Bereich der Kontaktfläche diffundieren und eine Fusion zu größeren

4 Ergebnisse

Vesikeln verhindern^[191,192]. Die Aggregation konnte für Vesikel aus Span® 80 und DCP nicht beobachtet werden. Der in Tab. 4.8 gezeigte Größenunterschied der Vesikel, weist auch darauf hin, dass beim Vorhandensein von Span® 80 dieses in die Doppelschicht mit eingebaut wird.

Tab. 4.8 Mittlere Größe der Vesikel, hergestellt mithilfe der Electrospray-Apparatur für unterschiedliche Tensidzusammensetzungen.

System	Vesikelgröße/ μm
DCP	2.8 ± 1.0
DCP/ Span® 80	4.1 ± 1.0

Die in Wasser gebildeten Vesikel sind nur in geringer Anzahl vorhanden und sehr instabil. Sie weisen eine Größe von ca. $28 \pm 16 \mu\text{m}$ auf.

Mit wasserlöslichen Tensiden konnten bisher keine Vesikel hergestellt werden. Dies lässt sich durch die langsamere Adsorption dieser Tenside an die Grenzfläche erklären. Die Grenzfläche wird nicht schnell genug von Tensiden belegt und die Grenzflächenspannung sinkt somit nicht schnell genug, um die Tropfen in der Ölphase zu stabilisieren. Die Tropfen wanderten zur Ringelektrode, wo sie anschließend koaleszierten. Weiterhin weisen wasserlösliche Tenside einen hohen HLB Wert auf, so dass sich häufig nach dem Zerfall der Wassertropfen eine O/W-Emulsion direkt unterhalb der Grenzfläche bildete.

4.3 Einbaueffizienz

4.3.1 System: Carboxyfluorescein

Da es mit der Methode des Phasentransfers zur Vesikelherstellung relativ einfach ist, Wirkstoffe in die Vesikel einzubringen, wurden derartige Phänomene mithilfe von Fluoreszenzmessungen untersucht^[99]. Als Additiv wurde der in hohen Konzentrationen selbst quenchende Fluorophor Carboxyfluorescein gewählt. Dieser wird in einer hohen Konzentration (100 mmol/L) in die wässrige, innere Phase der W/O-Emulsionen bzw. Vesikel eingebaut, sodass keine Fluoreszenzintensität gemessen werden kann. Nach der Zerstörung der Vesikel durch ein Detergenz (Triton X-100) wurde der Fluorophor in die wässrige Lösung abgegeben. Durch die Verdünnung steigt der mittlere Abstand zwischen den fluoreszierenden Sonden und es kann eine entsprechende Zunahme der Fluoreszenzintensität detektiert werden.

4 Ergebnisse

Bei Untersuchungen der Methode des Phasentransfers wurde festgestellt, dass ein großer Teil der Tropfen mit der unteren Wasserphase koalesziert und keine Vesikel ausbildet. Die Vesikelsuspension zeigte daher eine gewisse Fluoreszenzintensität, die von der Tropfenkoaleszenz abhing. Nach der Zerstörung der Vesikel wurde die Konzentration des Fluorophors noch weiter erhöht, sodass es wieder zu einer Intensitätsabnahme kam. Ein typisches Spektrum dieser Messung ist in Abb. 4.49 dargestellt. Anschließend wurde jeweils eine Kontrollmessung mit einer verdünnten Probe durchgeführt.

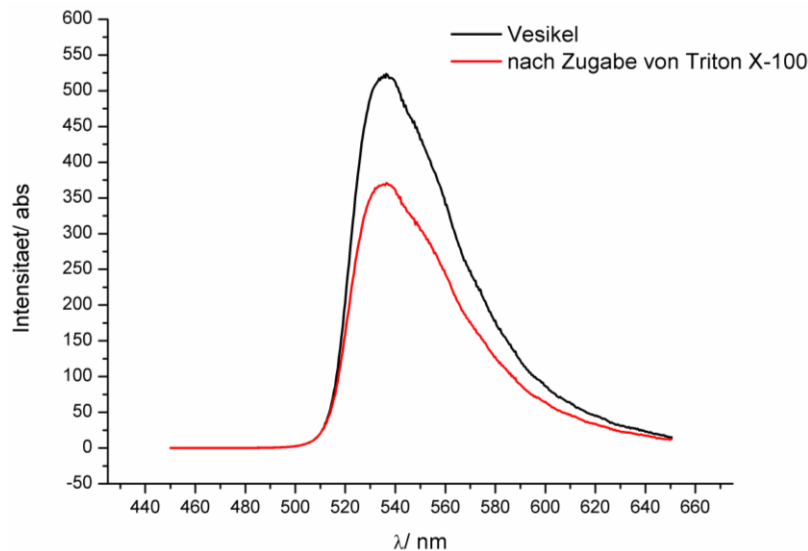


Abb. 4.49 Beispiel eines Fluoreszenzspektrums vor und nach Zerstörung von AOT-Vesikeln.

Die Auswertung der gemessenen Fluoreszenzintensitäten erfolgte anhand einer zuvor aufgenommenen Verdünnungsreihe bei 517 nm. Zu beachten ist hierbei, dass das Intensitätsmaximum mit zunehmender Fluorophor-Konzentration einer Rotverschiebung zu größeren Wellenlängen unterliegt. Gleichzeitig nimmt die Fluoreszenzintensität ab. Um eine vergleichbare Auswertung zu ermöglichen, wurden jedoch immer die Intensitäten bei 517 nm zu Grunde gelegt. Die berechnete Einbaueffizienz bezieht sich auf die Konzentration der Vesikelsuspension. Durch eventuell vorhandenes Lösungsmittel ergab sich lediglich eine Verschiebung der Intensität zu höheren Werten, was zu einem Fehler im Bereich von ca. 1-5% führen kann.

4.3.2 Auswertung und Vergleich der Herstellungsmethoden

Ein Vergleich der bisher untersuchten Phasentransfermethoden zeigte für AOT-Vesikel keine relevanten Unterschiede bezüglich der Einbaueffizienz (Tab. 4.9). Die genaue Anzahl der

4 Ergebnisse

Vesikel beim Phasentransferprozess kann stark schwanken, abhängig davon wie die Vesikel auf z.B osmotischen Druck reagieren (Verformung oder Zerstörung). Der Fehler der Ergebnisse kann somit auch größer sein, als die mittlere, berechnete Einbaueffizienz.

Tab. 4.9 Vergleich der Ergebnisse der Einbaueffizienz für unterschiedliche Phasentransfermethoden von AOT-Vesikeln.

Methode	Einbaueffizienz/ %
Zerfall Riesenvesikel	5.7 ± 6.3
Zentrifugation	13.1 ± 6.2
Dichtevarianz	9.9 ± 10.8
Electrospray	12.6 ± 6.5

Lediglich beim Zerfall der Riesenvesikel im mm-Maßstab wurde eine geringere Einbaumenge bestimmt. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass der Mechanismus der Vesikelbildung in diesem Fall nicht der Phasentransfer sondern die Verwirbelung von lamellaren Phasen ist. Riesenvesikel im Bereich von 1-3 mm, die durch Phasentransfer hergestellt wurden, konnten aufgrund ihrer hohen Instabilität nicht vermessen werden. Mikroskopische Aufnahmen zeigten einen nahezu vollständigen Einbau der fluoreszierenden Farbstoffe in die Vesikel. Nach dem Zerfall dieser Vesikel konnte mittels dynamischer Lichtstreuung und TEM-Aufnahmen gezeigt werden, dass kleinere Partikel im Bereich zwischen 100-500 nm gebildet wurden. Es kann davon ausgegangen werden, dass es sich dabei um Vesikel handelt. Die geringere Einbaueffizienz für die zerfallenen Riesenvesikel kann daher mit ihrem Bildungsmechanismus erklärt werden.

Auch eine Abschätzung der umgesetzten Tropfenmenge kann durch die Fluoreszenzmessung erfolgen. Hierfür wurde die Konzentration bei einem vollständigen Tropfentransfer mit der gemessenen Konzentration verglichen. Es zeigte sich, dass der Umsatz stark in Abhängigkeit der Methode und des Tensids schwankt (Tab. 4.10). Beim Phasentransfer durch Zentrifugation wurde der größte Umsatz für AOT erzielt, während Mikroemulsionen fast gar keinen Umsatz zeigten. Auch bei den unterschiedlichen Zuckerkonzentrationen bei der Herstellung der Vesikel durch Dichtevarianz zeigte sich ein maximaler Umsatz bei 100 mmol/L. Mithilfe der Electrospray-Apparatur konnte ein mittlerer Umsatz der Tropfen durch Phasentransfer erzielt werden.

4 Ergebnisse

Tab. 4.10 Umsatz des Übergangs der Wassertropfen in die untere Wasserphase, gemessen mittels Fluorophor-übertrag (ME: Mikroemulsion). Sofern nicht anders angegeben, beziehen sich alle Werte auf die Herstellung mit Dodecan als Lösungsmittel.

Methode	Tensid und andere Parameter	Umsatz/ %
Zerfall Riesenvesikel	AOT	96.3 ± 63.3
Zentrifugation	AOT	100.00 ± 28.6
	Span® 80	20.32 ± 10.5
	Asolectin	20.7 ± 15.8
	SDS	26.6 ± 0.3
	DTABr	0.1 ± 0.01
	Tween® 20	0.1 ± 0.02
	ME: AOT/ Isooctan	14.5 ± 0.7
	ME: Span® 80/ Cyclohexan	3.3 ± 0.5
	ME: Span® 80/ Tween® 80/ Decan	3.1 ± 6.8
	ME: Span® 80/ Tween® 80/ Hexadecan	2.6 ± 9.8
Dichtevarianz	AOT (0 mmol/L Zucker)	60.5 ± 38.5
	AOT (1 mmol/L Zucker)	4.6 ± 1.6
	AOT (10 mmol/L Zucker)	6.9 ± 1.9
	AOT (100 mmol/L Zucker)	8.6 ± 5.0
	AOT (1000 mmol/L Zucker)	2.8 ± 0.4
	AOT/ Tetradecan (0 mmol/L Zucker)	66.3 ± 26.6
	AOT/ Hexadecan (0 mmol/L Zucker)	97.2 ± 7.1
	Span® 80/ DCP/ Heptan-Ethanol (0 mmol/L Zucker)	51.8 ± 28.3
	DCP/ Heptan-Ethanol (0 mmol/L Zucker)	46.6 ± 19.5
Electrospray	AOT	34.9 ± 19.5
	AOT/ Tetradecan	43.6 ± 14.6
	AOT/ Hexadecan	45.3 ± 14.2
	DLPC	55.1 ± 22.2
	Span® 80/ DCP/ Heptan-Ethanol	13.5 ± 7.8
	DCP/ Heptan-Ethanol	10.6 ± 2.8

4 Ergebnisse

Beim Phasentransfer durch Zentrifugation konnte keine Änderung der Einbaueffizienz in Abhängigkeit der Zentrifugalkraft für Span® 80 beobachtet werden. Die Einbaueffizienz schwankte im Bereich von 5-10%. Es wurde weiterhin beobachtet, dass auch wasserlösliche Tenside Vesikel ausbildeten. Auch wenn Mizellen die bevorzugten Aggregate dieser wasserlöslichen Tenside sind, können kinetisch stabilisierte Vesikel hergestellt werden. Wechselwirkungen zwischen Mizellen und dem Fluorophor können jedoch nicht ausgeschlossen werden und die Einbaueffizienzen verfälschen. In Tab. 4.11 sind die Ergebnisse für Vesikel, hergestellt durch Zentrifugation, für unterschiedliche Tensidarten dargestellt.

Tab. 4.11 Vergleich der Ergebnisse der Einbaueffizienz unterschiedlicher Vesikelzusammensetzung. Der Phasentransfer erfolgte durch Zentrifugation.

System/ Emulsionen	Einbaueffizienz/ %	System/ Mikroemulsionen	Einbaueffizienz/ %
Span® 80	3.6 ± 3.3	AOT/ Isooctan	7.7 ± 4.7
AOT	13.1 ± 6.2	Span® 80/ Cyclohexan	13.1 ± 5.0
Asolectin	5.57 ± 3.3	Span® 80/ Tween 80/ Decan	5.9 ± 2.9
Tween 20	71.5 ± 4.4	Span® 80/ Tween 80/ Hexadecan	1.6 ± 1.2
SDS	13.3 ± 3.9		
DTABr	49.8 ± 6.3		

Wie in der oberen Tabelle zu sehen, zeigten Vesikel, hergestellt durch den Phasentransfer von Mikroemulsionen, eine ähnliche Einbaueffizienz wie die Vesikel aus Emulsionen. Der Tropfenumsatz durch Phasentransferprozesse war jedoch geringer. Die thermodynamische Stabilität dieser Emulsionen verhindert weitgehend einen Phasentransfer der Tropfen in die untere Wasserphase. Nur wenige Tropfen werden in Vesikel überführt und ergeben so einen geringeren Umsatz. Diese Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit Messungen der dynamischen Lichtstreuung, mit der Tropfen in der oberen Ölphase auch nach der Zentrifugation nachgewiesen werden konnten. Die Stabilität der einzelnen Mikroemulsionstropfen trägt aber auch dazu bei, dass eine vergleichbare Einbaueffizienz erzielt wird.

Die Einbaueffizienzen für AOT-Vesikel, die durch Dichtevarianz hergestellt wurden, ist in Abhängigkeit der Zuckerkonzentration in Abb. 4.50 dargestellt.

4 Ergebnisse

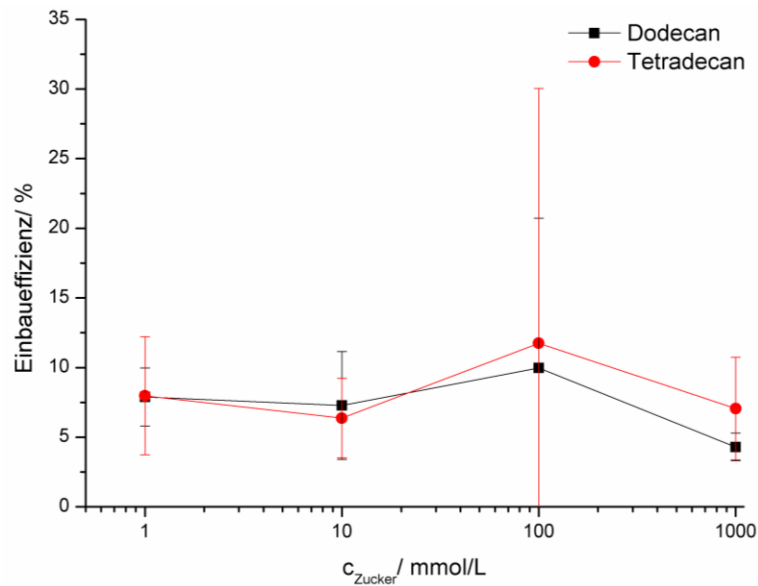


Abb. 4.50 Einbaueffizienz der AOT-Vesikel, hergestellt mittels Dichtevarianz, in Abhängigkeit der Zuckerkonzentration. Zur besseren, logarithmischen Darstellung wird die Konzentration von 0 mmol/L nicht dargestellt.

Für eine Zuckerkonzentration von 100 mmol/L zeigt sich ein Maximum der Einbaueffizienz der AOT-Vesikel. Die Emulsionen für den Phasentransfer durch Dichtevarianz werden durch einfaches Vermischen hergestellt. Da die Dichte und die Viskosität der unterschiedlichen Zuckerlösungen mit zunehmender Konzentration ansteigen, werden die Tropfengrößen in der Emulsion unterschiedlich sein. Bei einer Konzentration von 100 mmol/L scheint die Tropfengröße somit gut für den Phasentransfer geeignet zu sein, so dass nur wenig Koaleszenz oder Zerfall zur Ausbildung von Vesikeln notwendig ist. Der Fluorophor in den Tropfen wird direkt in die untere Wasserphase überführt und von einer Doppelschicht umschlossen. Der Fehler der Einbaueffizienz ist für eine Konzentration von 100 mmol/L am größten. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass eine Änderung der Zuckerkonzentration keine Auswirkung auf die Einbaueffizienz hat.

Für die Untersuchung der Vesikel, hergestellt mithilfe der Electro spray-Apparatur, musste eine geringere Zutropfmenge gewählt werden um eine Detektion der Fluoreszenzintensität zu ermöglichen. Für höhere Zutropfmengen ist dies aufgrund der steigenden Fluorophorkonzentration und damit verbundenen Messintensität nicht mehr gegeben. Es wurden um den Faktor 10 kleinere Zutropfmengen gewählt im Vergleich zur Größenbestimmung. Es konnte keine Abhängigkeit der Einbaueffizienz von der Zutropfmenge festgestellt werden. Eine Abhängigkeit der Einbaueffizienz konnte nur für eine Änderung der Zutropfgeschwindigkeit gemessen werden (Abb. 4.51).

4 Ergebnisse

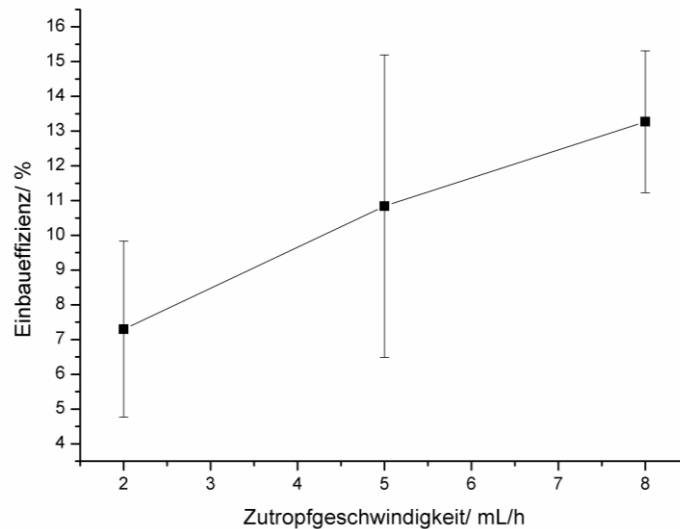


Abb. 4.51 Einbaueffizienz der AOT-Vesikel, hergestellt mithilfe der Electro spray-Apparatur, in Abhängigkeit der Zutropfgeschwindigkeit.

Mit einer Erhöhung der Zutropfgeschwindigkeit konnte eine Zunahme der Einbaueffizienz für AOT-Vesikel beobachtet werden. Dies widerspricht der Aussage, dass mit zunehmender Zutropfgeschwindigkeit die Anzahl der μm -großen-Vesikel abnimmt. Da sich durch den Zerfall der Tropfen aber auch Vesikel im nm-Bereich bilden können und diese auch zur Erhöhung der Einbaueffizienz beitragen, kann die Einbaueffizienz mit steigender Zutropfgeschwindigkeit steigen. Eine bessere Eignung von Vesikeln im nm-Bereich zum Wirkstoffeinbau kann jedoch durch den Vergleich der Herstellungsmethoden ausgeschlossen werden (Tab. 4.9). Auffällig war weiterhin die geringe Einbaueffizienz für das Lösungsmittel Hexadecan (Tab. 4.12). Dies lässt sich durch mehr Koaleszenz- oder Zerfallsprozesse der Vesikel erklären, die aufgrund der Tropfengröße im viskoserem Medium notwendig sind.

Tab. 4.12 Einbaueffizienz für AOT-Vesikel hergestellt mit Hilfe der Electro spray-Apparatur in Abhängigkeit des Lösungsmittels.

Lösungsmittel	Einbaueffizienz/ %
Dodecan	7.3 ± 2.5
Tetradecan	8.3 ± 2.5
Hexadecan	1.2 ± 0.9

Ein Vergleich der Einbaueffizienz der unterschiedlichen Vesikelzusammensetzungen, die mit der Electro spray-Apparatur untersucht wurden, ist in Tab. 4.13 dargestellt.

4 Ergebnisse

Tab. 4.13 Vergleich der Ergebnisse der Einbaueffizienz für unterschiedliche Vesikelzusammensetzungen. Der Phasentransfer erfolgte mit der Electrospray-Apparatur.

Methode	Einbaueffizienz/ %
AOT	12.6 ± 6.5
DLPC	20.5 ± 13.1
Span® 80/ PEG 400	19.3 ± 7.0
DPC	2.6 ± 2.8
Span® 80/ DCP	4.4 ± 4.9

Die höchste Einbaueffizienz kann hierbei für die Vesikel aus DLPC und die mit PEG 400 stabilisierten Vesikel aus Span® 80 beobachtet werden. Dies lässt weiterhin vermuten, dass DLPC-Vesikel durch Phasentransfer hergestellt werden können und neben spontan gebildeten DLPC-Vesikeln vorliegen. Ein Unterschied in der Einbaumenge konnte auch für Vesikel aus DCP und Span®80/ DCP gefunden werden. Dies zeigt, wie auch schon der Größenunterschied, dass Span®80 in die Vesikelmembran eingebaut wird.

Weitere Untersuchungen der Einbaueffizienz durch Änderungen der Tensidkonzentration, des Lösungsmittels, etc. ergaben keine neuen Erkenntnisse bezüglich der Einbaueffizienzen.

Die in Abb. 4.52 dargestellten Vesikelformen weisen auf die Änderung der sphärischen Vesikelform aufgrund von osmotischem Druck hin.

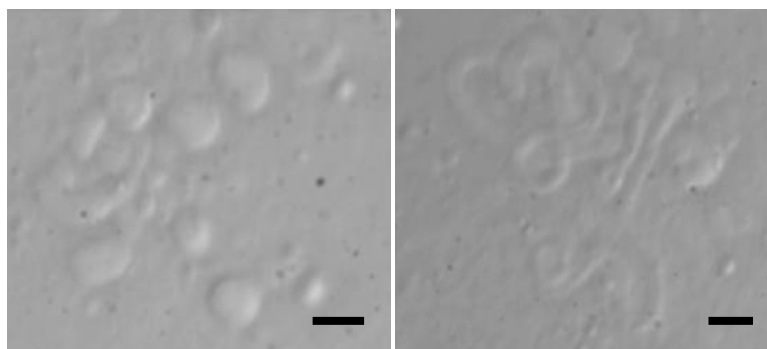


Abb. 4.52 DIC-Mikroskopie-Aufnahmen von AOT-Vesikel gefüllt mit Fluorophor, hergestellt mithilfe der Electrospray-Apparatur. Aufgrund der hohen Konzentration und des hohen osmotischen Druckes kommt es zu einer Deformation der sphärischen Vesikelform (Größenskala: 10 μm).

Die geringe Einbaueffizienz kann eventuell auf einen hohen osmotischen Druck zurückgeführt werden. Die Konzentration der zugegebenen Substanzen betrug ca.

100 mmol/L. Der osmotische Ausgleich der eingebauten Fluoreszenzsonden sollte durch Natriumchlorid erfolgen, das in der unteren Wasserphase vorgelegt wird. Die genauen Einstellungen zum Ausgleichen des osmotischen Drucks wurden nicht detailliert analysiert. Da der Einbau von wasserlöslichen Farbstoffen besser und ohne Diffusion in die untere Wasserphase erfolgt und die Einbaueffizienz auch von der Wechselwirkung zwischen Tensid und Wirkstoff abhängt^[3], sollte der Einbau weiterer Wirkstoffe untersucht werden.

4.4 Theoretisches Modell zur Vesikelgröße

Eine mögliche Erklärung der erhaltenen Vesikelgrößen wurde in Ref.^[97] für die aus Zuckerlösungen hergestellten Liposomen vorgestellt. Dieses theoretische Modell besagt, dass sich bei Phasentransferprozessen Vesikel ausbilden, wenn die Gravitationsenergie der Tropfen die Biegesteifigkeit der Grenzschicht überwindet. Für die Gravitationsenergie E_{grav} wird dabei folgende Gleichung zu Grunde gelegt

$$E_{grav} = \frac{8\pi}{3} \Delta\rho g r^4 \quad (4.7)$$

mit $\Delta\rho$ der Dichtedifferenz, g der Fallbeschleunigung und r dem Tropfenradius. Für die Dichtedifferenz werden bei der Methode der Dichtevarianz die Dichten der Saccharose- und Glucoselösungen zu Grunde gelegt, bei der Methode der Zentrifugation die Dichten der Tropfen- und Lösungsmittelphase. Zur Berechnung der Energie der Biegesteifigkeit E_{bend} (engl. bend: Krümmung) wird Gleichung (2.13) herangezogen. Für die Bildung einer Monolage wird folgende Energie angenommen

$$E_{bend} = 4\pi\kappa \quad (4.8)$$

mit κ der Biegesteifigkeit.

Für eine optimale Vesikelbildung sollte der Tropfen möglichst genau so groß sein, dass er gerade die Energie aufbringen kann, um die Biegesteifigkeit des Tensidfilms zu überwinden. Ist der Wassertropfen und damit die Gravitationsenergie zu klein, kann der Tropfen die Grenzfläche nicht durchdringen. Ist er zu groß, ergeben sich deutliche Energiedifferenzen. Der Tropfen sinkt zu schnell durch die Grenzfläche, sodass sich die äußere Tensidschicht nicht vollständig ausbilden kann. Der Tropfen zerfällt oder es wird Öl in die Membran eingebaut.

4.4.1 Vergleich der theoretischen und experimentellen Daten

Der Vergleich der experimentellen Werte mit theoretischen Daten zeigt für die Vesikelgrößen in Abhängigkeit von der Gravitationsenergie eine generelle Übereinstimmung (Abb. 4.53 und Abb. 4.54) mit diesem einfachen Modell. Vesikel im nm-Bereich, hergestellt bei unterschiedlichen Zentrifugalkräften, zeigen eine Übereinstimmung mit den theoretisch berechneten Daten. Auch die Messdaten der Vesikel im μm -Bereich, hergestellt durch Dichteunterschiede aufgrund unterschiedlicher Zuckerkonzentrationen, zeigen eine Übereinstimmung mit dem theoretischen Ansatz. Die Biegesteifigkeit für AOT-Grenzflächen wurde Referenz^[181] entnommen.

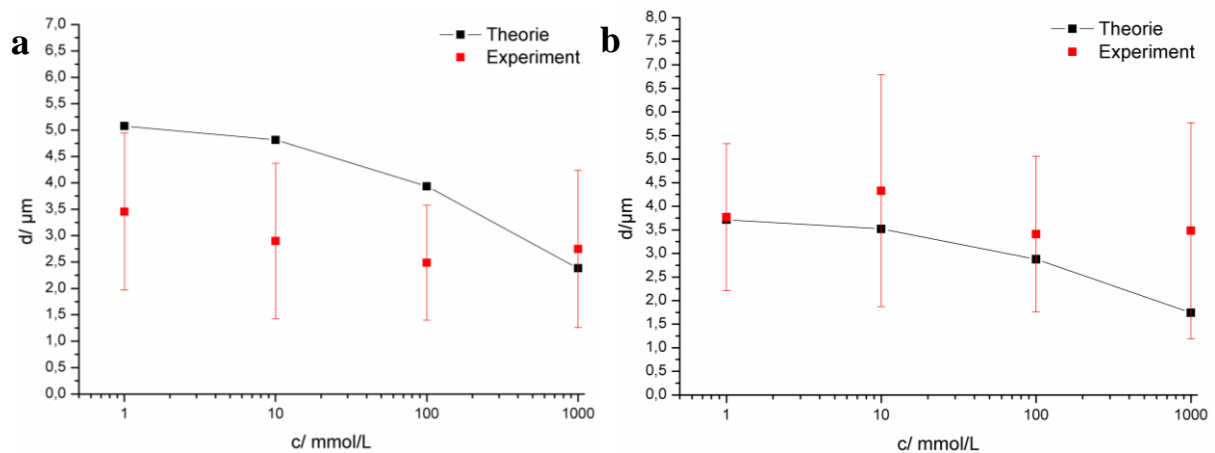


Abb. 4.53 Vergleich der theoretischen und experimentellen Daten für AOT-Vesikel, hergestellt mittels Dichteverianz für unterschiedliche Lösungsmittel: a) Dodecan, b) Tetradecan^[193].

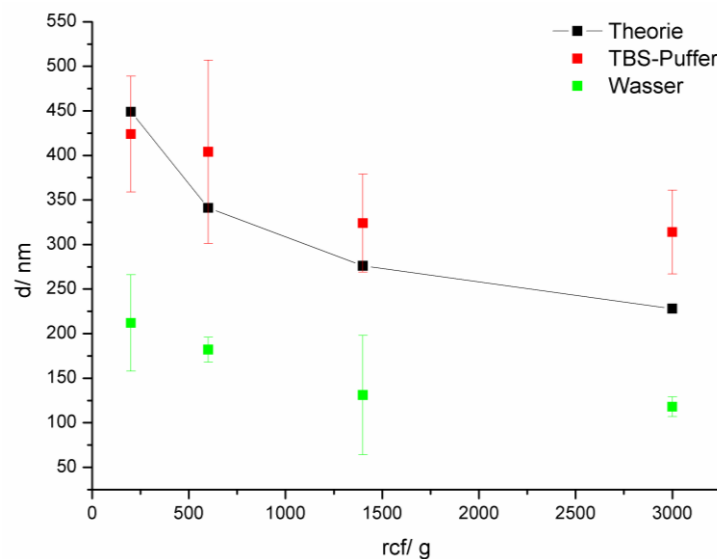


Abb. 4.54 Vergleich der theoretischen und experimentellen Daten für AOT-Vesikel, hergestellt mittels Zentrifugation für unterschiedliche Wasserphasen^[193].

4 Ergebnisse

Die größeren Abweichungen für Vesikel, hergestellt in TBS-Puffer, lassen sich mit Schwankungen der Biegesteifigkeit durch ionische Zusätze erklären. Der Zusatz von NaCl beeinflusste die Wechselwirkungen zwischen den negativen Kopfgruppen der AOT-Tenside und änderte damit sowohl den Packungsparameter als auch die Biegesteifigkeit. Wie in Referenz^[71] beschrieben, durchläuft die Biegesteifigkeit von anionischen Tensiden ein Minimum bei Änderungen der Ionenkonzentration. Eine ähnliche Abhängigkeit konnte für AOT-Vesikel, hergestellt mittels Zentrifugation, ebenfalls bestätigt werden (vgl. Abb. 4.24). Da die Biegesteifigkeit durch eine Extrapolation von Ellipsometrie-Daten bei verschiedenen NaCl-Konzentrationen erhalten wird, liegen die theoretischen Daten wie erwartet zwischen beiden Messkurven (Abb. 4.54).

Ein Vergleich von theoretischen Daten mit experimentellen Ergebnissen der Vesikel in Abhängigkeit des Lösungsmittels ist in Tab. 4.14 dargestellt.

Tab. 4.14 Vergleich der theoretischen und experimentellen Daten der AOT-Vesikelgröße für unterschiedliche Phasentransfermethoden und Lösungsmittel.

Methode	Lösungsmittel	d_{theo}	d_{exp}
Zentrifugation	Dodecan	149 nm	314 ± 47 nm
	Tetradecan	110 nm	347 ± 22 nm
	Hexadecan	-	502 ± 221 nm
Dichteverianz	Dodecan	4.8 μm	2.9 ± 1.5 μm
	Tetradecan	3.5 μm	4.3 ± 2.5 μm
	Hexadecan	-	3.9 ± 1.5 μm
Electrospray	Dodecan	6.1 μm	8.3 ± 7.0 μm
	Tetradecan	4.5 μm	6.0 ± 2.5 μm
	Hexadecan	-	5.0 ± 2.4 μm

Für die Grenzfläche aus AOT zwischen Wasser und Hexadecan wurden für die Biegesteifigkeit keine Literaturdaten gefunden. Es kann jedoch aufgrund des abnehmenden Verlaufs für eine zunehmende Kettenlänge des Lösungsmittels^[181] davon ausgegangen werden, dass der Wert kleiner als der für Tetradecan ($\kappa = 0.04$ kT) ist. Nur bei AOT-Vesikeln, die mithilfe der Electrospray-Apparatur hergestellt wurden, stimmt die Tendenz zur Abnahme der Vesikelgröße mit zunehmender Lösungsmittelviskosität von experimentellen und theoretischen Daten überein. Bei der Herstellung mittels Zentrifugation ist ein gegenläufiger

Trend erkennbar. Während die theoretischen Daten von einer kleineren Vesikelgröße mit zunehmender Lösungsmittelviskosität ausgehen, zeigen die experimentellen Daten eine Vergrößerung der Vesikel. Dies kann auf den geringen Unterschied der Biegesteifigkeit bei Dodecan- und Tetradecan-Grenzschichten ($\Delta\kappa = 0.1 \text{ kT}$) zurück geführt werden. Die Schwankungen der experimentellen Vesikelgröße deuten ebenfalls darauf hin. Die Größe der Vesikel, hergestellt mittels Dichtevarianz, zeigt keine eindeutige Tendenz.

Die Berechnung der Biegesteifigkeit von Span® 80-Grenzschichten anhand der Zentrifugationsdaten ergibt eine Biegesteifigkeit von etwa $\kappa = 0.18 \pm 0.09 \text{ kT}$. Da es jedoch nicht möglich war, mithilfe der Dichtevarianz und der Electrospray-Apparatur Vesikel herzustellen, die nur aus Span® 80 bestanden, sollten andere Einflüsse wie z.B. die Tropfengröße, das Lösungsmittel, die Stabilität der Emulsion sowie Koaleszenz- und Zerfallsprozesse nicht außer Acht gelassen werden. Letzteres soll im nächsten Abschnitt näher beschrieben werden.

4.1.2 Einfluss von Koaleszenz-/ Sedimentationsgeschwindigkeit

Die Ergebnisse der Größe der Vesikel, hergestellt mittels Zentrifugation sowie mithilfe des Electrosprays, deuten neben der Abhängigkeit von der Gravitationsenergie und Biegesteifigkeit auch auf eine Abhängigkeit von der Koaleszenz und Sedimentation hin. Weiterhin wurde bereits in Abschnitt 4.3.2 gezeigt, dass Wassertropfen, die mit AOT stabilisiert sind, eine andere Drainagezeit und einen anderen Sedimentations- und Koaleszenzmechanismus aufweisen als Span® 80.

Es wurde experimentell die Höhenänderung der Grenzfläche aufgrund von Koaleszenz- und Sedimentationsprozessen in einer nicht-stabilen Emulsion in Abhängigkeit der Zeit untersucht. In Abb. 4.55 sind die Höhenänderungen im Verlauf der Zeit für Emulsionen mit AOT in Abhängigkeit des Wasseranteils und des Lösungsmittels dargestellt. Die Werte wurden aufgrund der besseren Vergleichbarkeit auf die maximal gemessene Höhe normiert.

4 Ergebnisse

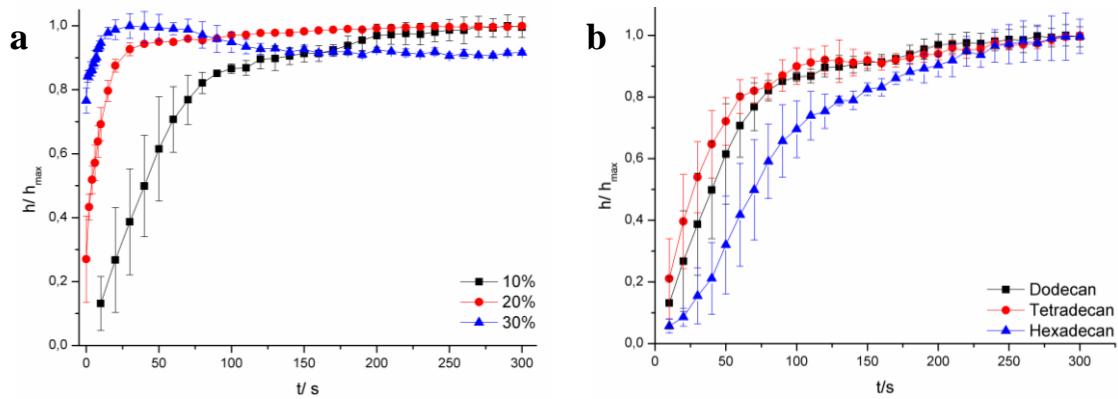


Abb. 4.55 Verlauf der Höhenänderung der Grenzfläche einer W/O-Emulsion mit AOT in Abhängigkeit der Zeit: a) Änderung des Wasseranteils, b) Änderung des Lösungsmittels.

Durch Bestimmung der Steigung der Kurven im Bereich kleiner Zeiten ($t_{max} = 60$ s) kann die Sedimentations-/ Koaleszenzgeschwindigkeit v bestimmt werden. Die genauen Werte sind in Tab. 4.15 dargestellt.

Tab. 4.15 Sedimentations-/ Koaleszenzgeschwindigkeiten von W/O-Emulsionen mit AOT in Abhängigkeit der Wassermenge und des Lösungsmittels.

Wassermenge/ v1%	$v/ 10^{-2} \text{ mm s}^{-1}$	Lösungsmittel	$v/ 10^{-2} \text{ mm s}^{-1}$
10	3.5 ± 0.1	Dodecan	3.5 ± 0.1
20	10.4 ± 2.1	Tetradecan	3.1 ± 0.3
30	13.7 ± 1.5	Hexadecan	1.8 ± 0.2

Wie zu erwarten sinkt die Geschwindigkeit mit Zunahme der Viskosität des Lösungsmittels sowie mit abnehmendem Wasseranteil (dispergierter Teil) in der Emulsion. Unter der vereinfachten Annahme, dass sich ein linearer Verlauf der Geschwindigkeit in Abhängigkeit des Lösungsmittels und des Volumenanteils des Wassers ergibt, wurden die Werte extrapoliert und die Geschwindigkeiten für die Herstellung der Vesikel mittels Zentrifugation, Dichtevarianz und mit Hilfe des Electrospray berechnet. Die Vesikelgröße in Abhängigkeit der Sedimentations- und Koaleszenzgeschwindigkeit ist in Abb. 4.56 dargestellt. Die Geschwindigkeiten für Vesikel, hergestellt mittels Zentrifugation sind hierbei nur als Näherungen zu betrachten, da die Zentrifugationsbeschleunigung nicht berücksichtigt wurde. Für die Electrospray-Apparatur wurde bereits in Abschnitt 4.2.4 beschrieben, dass die Geschwindigkeit der Tropfen aufgrund des elektrischen Feldes vernachlässigt werden kann.

4 Ergebnisse

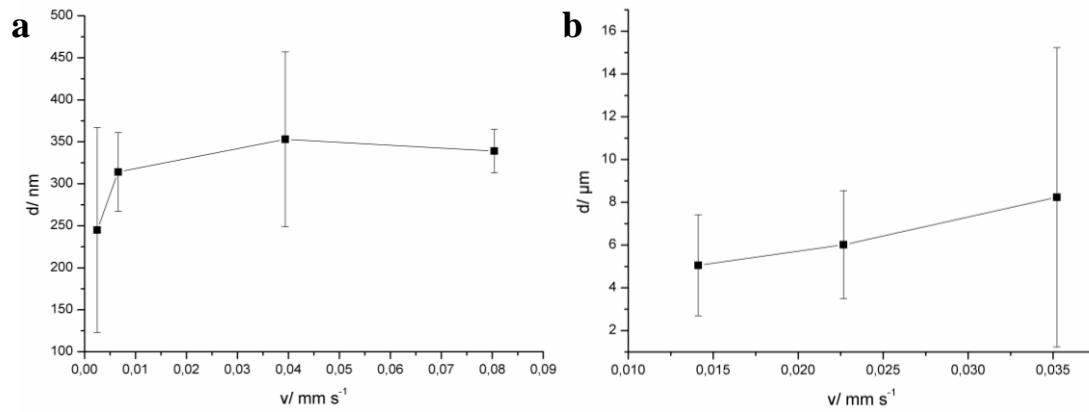


Abb. 4.56 Darstellung der Abhängigkeit der AOT-Vesikelgröße von der Sedimentations-/ Koaleszenzgeschwindigkeit: a) Zentrifugation, b) Electrospray.

Es zeigt sich eine tendenzielle Zunahme der Vesikelgröße mit Zunahme der Geschwindigkeit. Da der Wasseranteil der Emulsion bei der Electrospray-Apparatur (4 v1%) größer war als bei der Dichtevarianz (2.5 v1% Gesamtanteil in Emulsion und Lösungsmittel), erklärt dies auch die Entstehung größerer Vesikel, die mit Hilfe der Electrospray-Apparatur erhalten wurden (vgl. Tab. 4.14).

Auch für die Herstellung der Emulsionstropfen wurde ein Geschwindigkeitsunterschied festgestellt. So wiesen Emulsionen, die durch Durchmischen hergestellt wurden, eine kleinere Geschwindigkeit auf als Emulsionen, die im Ultraschallbad hergestellt wurden (Tab. 4.16).

Tab. 4.16 Sedimentations-/ Koaleszenzgeschwindigkeiten von W/O-Emulsionen mit AOT in Abhängigkeit der Emulsionsherstellung.

Herstellungsmethode	$v / 10^{-2} \text{ mm s}^{-1}$
Durchmischen	11.5 ± 0.1
Ultraschall	18.6 ± 0.1

Aus beiden Emulsionen wurden mittels Dichtevarianz (0 mmol/L) Vesikel hergestellt. Die Größenverteilungen sind in Abb. 4.57 dargestellt. Es zeigte sich auch hier, dass mit zunehmender Sedimentations-/ Koaleszenzgeschwindigkeit, die erhaltenen Größenverteilungen vermehrt große Vesikel aufweisen. In beiden Größenverteilungen ist jedoch eine Hauptgröße der Vesikel erkennbar.

4 Ergebnisse

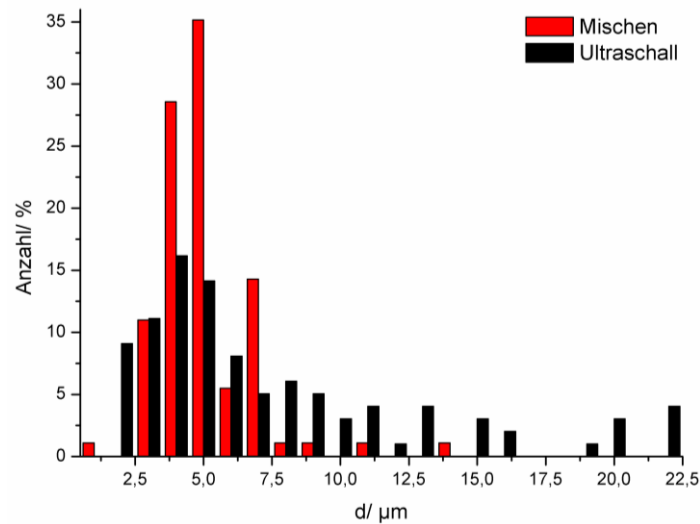


Abb. 4.57 Größenverteilung der AOT-Vesikel, hergestellt mittels Dichtevarianz (0 mmol/L) in Abhängigkeit der Tropfenherstellung.

Weiterhin wurde die Höhenänderung der Grenzfläche in einer Emulsion in Abhängigkeit der Zeit im Hinblick auf den Dichteunterschied untersucht. Hierzu wurden der Tropfenphase unterschiedliche Mengen an Saccharose (0-1000 mmol/L) zugegeben. Der Verlauf der Kurven ist in Abb. 4.58 dargestellt.

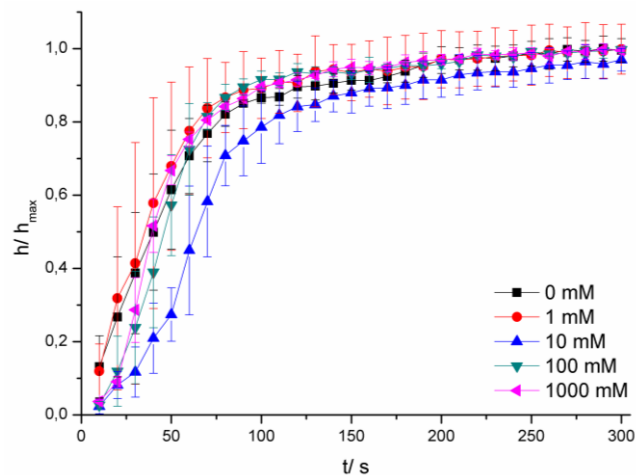


Abb. 4.58 Verlauf der Höhenänderung der Grenzfläche in Abhängigkeit der Zeit für W/O-Emulsionen mit AOT in Abhängigkeit der Zuckerkonzentration.

Es zeigte sich keine eindeutige Tendenz der Geschwindigkeit, was auf die nicht ausreichend genaue Messmethode zurückzuführen ist. Die Fehler der Messungen überschneiden sich. Somit sind die Geschwindigkeiten in einem annähernd ähnlichen Bereich, was die nur geringen Größenabweichungen der Vesikel in Abhängigkeit der Dichte/ Zuckerkonzentration erklärt.

4 Ergebnisse

Auch wenn sich eine Abhängigkeit der Vesikelgröße vom Wasseranteil der Emulsion zeigte, konnten experimentell keine Vesikelgrößen $d > 25 \mu\text{m}$ erhalten werden. Auch mit einem Volumenanteil von 37.5 % gelang die Herstellung größerer Vesikel nicht. Dies deutet auf einen Tropfenzerfall an der Grenzfläche hin, der einer partiellen Koaleszenz ähnelt. Diese partielle Koaleszenz tritt häufig bei Systemen auf, deren Lösungsmittel eine Viskositätsdifferenz $\Delta\eta < 11$ ist^[128]. Dies ist bei allen untersuchten Systemen gegeben. Es ist somit davon auszugehen, dass bei Emulsionen mit einem hohen Wasseranteil und damit großen Tropfenradien, die Tropfen an der Grenzfläche wieder zerfallen und nur ein Teil in Vesikel umgesetzt wird. Die Größe könnte hierbei von der Biegesteifigkeit der Grenzfläche und der Gravitationskraft abhängig sein. Es ist weiterhin davon auszugehen, dass für eine gewünschte Größenverteilung der Vesikel eine Anpassung der Emulsionsstabilität und der Transferzeit (vgl. Vesikel aus Mikroemulsionen, Abschnitt 4.2.2) notwendig ist. Je monodisperser die Verteilung sein soll, desto stabiler sollte die eingesetzte Emulsion sein. Dies führt jedoch zu einer längeren Transferzeit, da mehr Energie benötigt wird, die Tropfen abzusenken und durch die Grenzfläche zu transportieren.

In Abb. 4.59 ist der unterschiedliche Verlauf der Sedimentationskurven für AOT- und Span® 80-Emulsionen dargestellt.

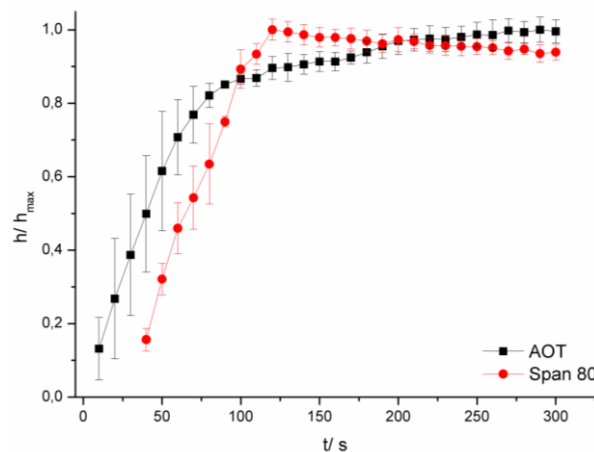


Abb. 4.59 Verlauf der Höhenänderung der Grenzfläche in Abhängigkeit der Zeit für W/O-Emulsionen mit verschiedenen Tensiden.

Es ist kein wesentlicher Unterschied der Geschwindigkeiten erkennbar. Für Span® 80 konnte aufgrund eines anderen Sedimentations- / Koaleszenzmechanismus als AOT (vgl. Abschnitt 4.3.2) die Grenzfläche zu Beginn nur schwer bestimmt werden. Ein Verlauf der Grenzflächenhöhe in Abhängigkeit der Zeit für Span® 80 und AOT ist in einzelnen Bildern in Abb. 4.60 dargestellt.

4 Ergebnisse

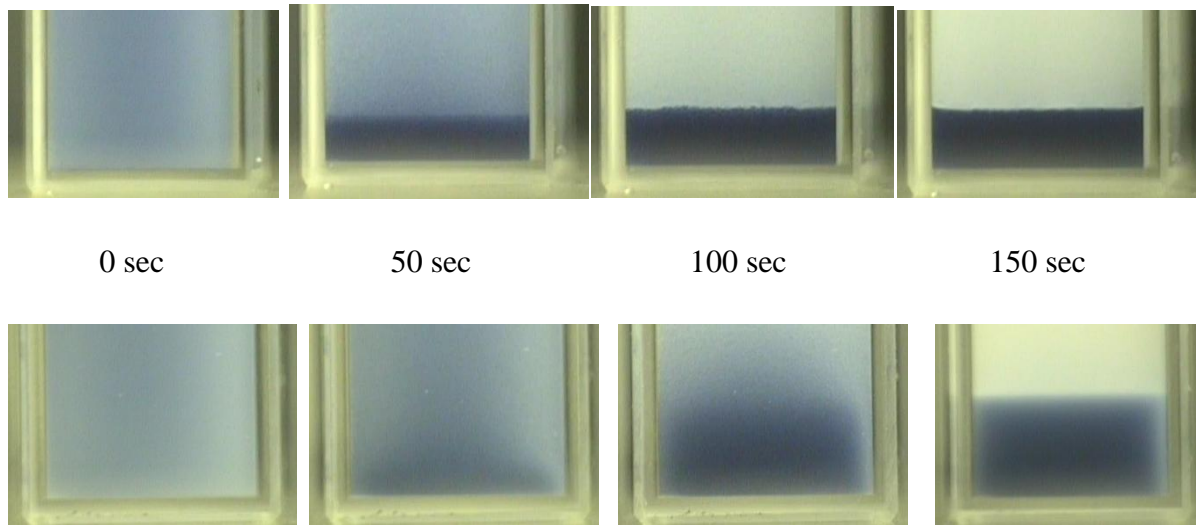


Abb. 4.60 Verlauf der Grenzflächenhöhe in Abhängigkeit der Zeit für AOT (obere Reihe) und Span® 80 (untere Reihe).

Es konnte gezeigt werden, dass auch der Wasseranteil der Emulsion und die damit einhergehende Sedimentations- und Koaleszenzgeschwindigkeit einen Einfluss auf die Vesikelgröße haben. Dies spielt jedoch nur eine untergeordnete Rolle und hat nur einen Einfluss auf die Breite der Größenverteilung. Alle hergestellten Vesikel liessen sich nur mit Tensiden herstellen, die einen geeigneten Packungsparameter hatten und wiesen eine Hauptgröße in Abhängigkeit der Biegesteifigkeit und der Gravitationsenergie auf.

4.5 Phasentransferprozesse an Wasser/ Luft-Grenzflächen

Im folgenden Abschnitt sollen kurz die Ergebnisse der Bachelorarbeit von Sebastian Limbacher^[194] beschrieben werden, die sich mit dem Phasentransfer von Wassertropfen stabilisiert mit Fettsäuren an Wasser/ Luft-Grenzflächen befasst. Die Arbeit wurde 2009 im Arbeitskreis von Prof. Dr. Rehage an der Technischen Universität Dortmund durchgeführt.

Wasserunlösliche Fettsäuren spreiten als Oberflächenfilm, wenn sie als Kristall auf Wasseroberflächen aufgebracht werden, als Oberflächenfilm. Hierbei konnte mit Hilfe des Tensiometers beobachtet werden, dass mit zunehmender Menge an Fettsäure eine niedrigere Oberflächenspannung erreicht wurde und ihr Abfall mit abnehmender Kettenlänge schneller erfolgte (Abb. 4.61). In der Regel wurden 1.4 – 140 mg feste Kristalle auf einer Wasseroberfläche von 36.32 cm² gespreitet.

4 Ergebnisse

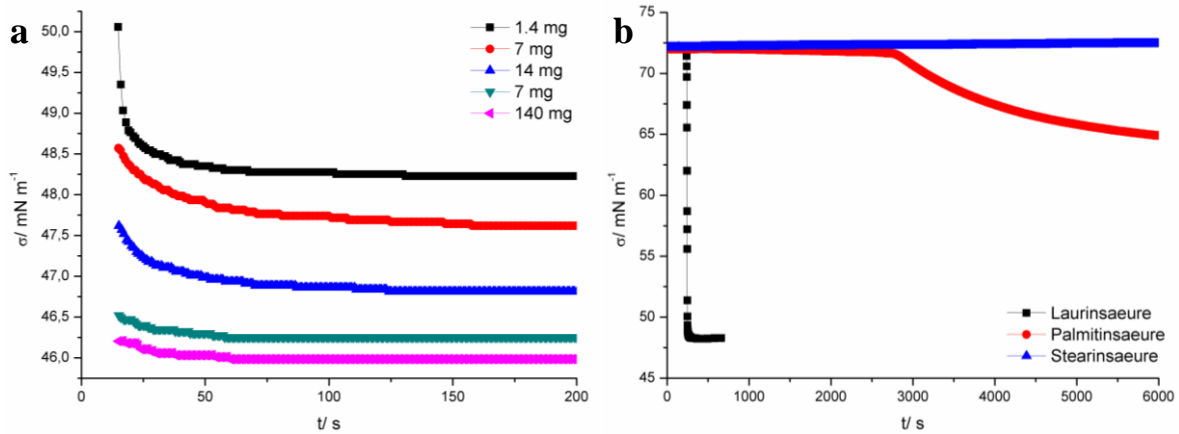


Abb. 4.61 Verlauf der Oberflächenspannung bei Spreitung von wasserunlöslichen Fettsäurekristallen. a) Unterschiedliche Mengen Laurinsäure, b) Fettsäuren mit unterschiedlicher Kettenlänge.

Ein Vergleich der erhaltenen Oberflächenspannungen mit gemessenen π/A -Isothermen (Abb. 4.62) zeigte, dass nur Monolagen aufspreiten und die Fettsäuren keine Multischichten ausbildeten.

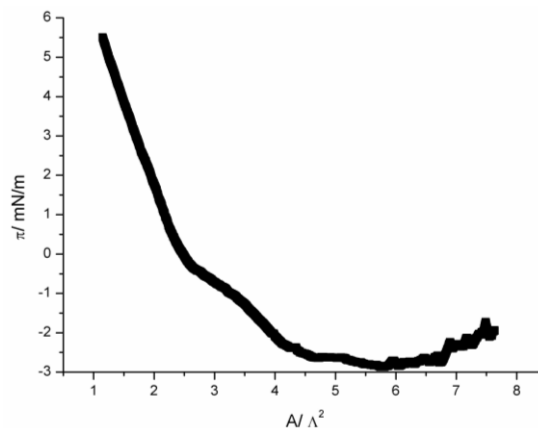


Abb. 4.62 π/A -Isotherme eines auf einer Wasseroberfläche gespreiteten Laurinsäurefilms. Die Laurinsäure (2 mg/mL) wurde in Chloroform gelöst und auf die Wasseroberfläche aufgebracht.

Ein Absinken der Oberflächenspannung eines Wassertropfens konnte auch gemessen werden, wenn die Wasserlösung an einem Fettsäurekristall vorbei geleitet wurde. Hierfür wurde der Kristall zwischen Spritze und Kanüle eingebracht. Wurde bei der Messung mit Hilfe der Wilhelmy-Platte ein Fettsäurekristall am Boden des Messgefäßes befestigt und Wasser darüber geschichtet, konnte jedoch keine Abnahme der Oberflächenspannung beobachtet werden. Innerhalb der Spritze werden somit vermutlich kleine Kristalle mitgerissen, die dann an der Wasseroberfläche spreiten.

4 Ergebnisse

Die scherrheologischen Messungen zeigten überwiegend elastische Eigenschaften der Filme (Abb. 4.63). Die viskosen Eigenschaften konnten aufgrund ihrer geringen Werte nicht vermessen werden. Dies kann entweder auf die nicht aufgelösten Fettsäurekristalle zurück geführt werden oder die Tenside bilden an der Wasseroberfläche aufgrund der geringen Wasserlöslichkeit einen stark elastischen Film aus.

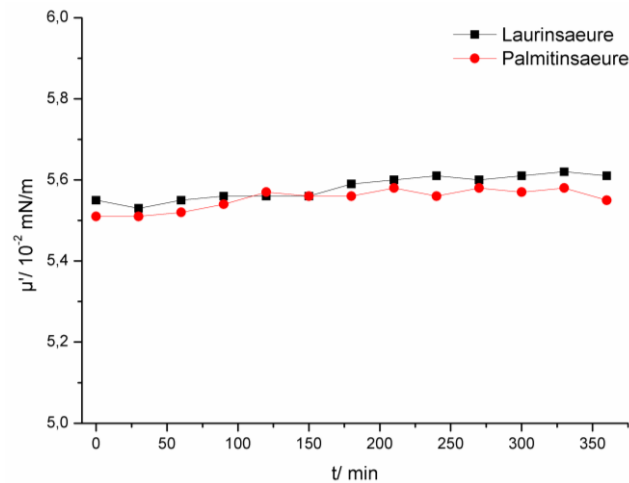


Abb. 4.63 Scherrheologische, elastische Eigenschaften der auf Wasseroberflächen gespreiteten Fettsäurefilme.

Durch einfaches Zutropfen eines Wassertropfens mit einem Fettsäurefilm auf eine Wasseroberfläche auf der sich ebenfalls ein Fettsäurefilm befindet, sollten Vesikel hergestellt werden. Es konnten keine Vesikel im mm-Bereich hergestellt werden. Eine mögliche Erklärung findet sich in Referenz^[195]. Vesikel aus Fettsäuren befinden sich im Gleichgewicht mit ihren Monomeren. Da dieses Gleichgewicht aufgrund der geringen bis nicht vorhandenen Wasserlöslichkeit zu Gunsten der Monomere verschoben wäre, kommt es nicht zu einer Ausbildung von Vesikeln.

Eine konstante Scherung ($\dot{\gamma} = 15 \text{ s}^{-1}$) der Lösung zeigte einen unregelmäßigen Verlauf der Viskosität (Abb. 4.64).

4 Ergebnisse

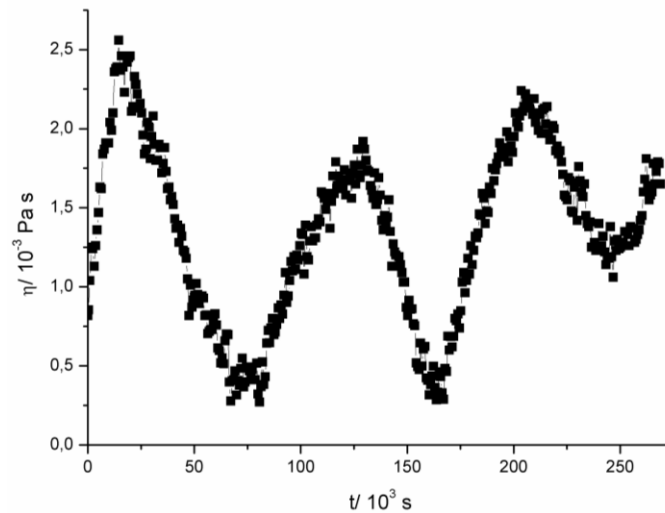


Abb. 4.64 Verlauf der Viskosität in Abhängigkeit der Zeit für eine Lösung mit Laurinsäurekristallen oder –doppelschichten (Scherrate $\dot{\gamma} = 15 \text{ s}^{-1}$).

Wurde die Scherung der Probe bei einem Maximum der Viskosität angehalten und die Probe mittels dynamischer Lichtstreuung vermessen, konnten Partikel im nm-Bereich detektiert werden (Abb. 4.65).

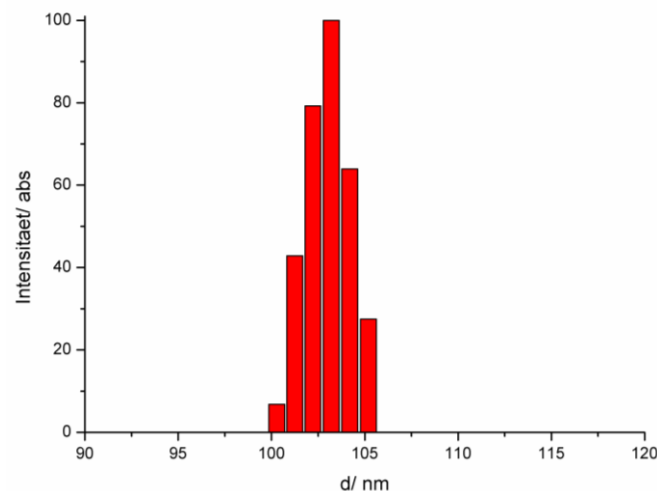


Abb. 4.65 DLS-Größenverteilung der Partikel nach Scherung einer wässrigen Lösung mit Laurinsäurekristallen oder –doppelschichten.

Es kann vermutet werden, dass beim Eintropfen lamellare Schichten mitgerissen werden, die durch Scherung Vesikel ausbilden^[196,197]. Ob es sich bei diesen Partikeln um Vesikel handelt und ob die Schwankungen der Viskosität eventuell auch auf Temperatur- oder Verdunstungseinflüsse zurück zu führen sind, sollte mit weiteren Experimenten untersucht werden.

5 Zusammenfassung

Diese Arbeit beschäftigte sich mit der Herstellung unilamellarer Vesikel mithilfe von Phasentransferprozessen. Es wurden kolloidchemische Methoden wie z.B. Grenzflächenspannungsmessungen, Scherrheologie, statische und dynamische Lichtstreuung verwendet um die Eigenschaften der an Wasser/ Öl-Grenzflächen gebildeten Tensidfilme und die Größe und Einbaueffizienz der Vesikel zu untersuchen.

Der Verlauf der Grenzflächenspannung zur Untersuchung der Adsorptionskinetik zeigte im gewählten Konzentrationsbereich (oberhalb der CMC) eine sehr schnelle Adsorption im Bereich von wenigen Sekunden an die Grenzfläche. Die Endwerte der Grenzflächenspannungen (2-10 mN/m) deuten auf eine vollständige Belegung der Wasser/ Öl-Grenzflächen hin, die für die Ausbildung von Vesikeln mit einer intakten Membran notwendig sind. Die scherrheologischen Messungen deuten auf stark viskose Eigenschaften der Tensidfilme hin. Dies führt zu einer leichteren Reorganisation einzelner Tensidmoleküle im Film hin, was die Ausbildung einer gekrümmten Vesikelmembran begünstigt.

Die Vesikel wurden durch 4 verschiedenen Methoden des Phasentransfers hergestellt. Hierzu wurde für alle Methoden eine Wasserphase mit einer Ölphase überschichtet. Tenside wurden entweder in der Öl- oder in einigen Fällen auch in der Wasserphase gelöst.

Zur Herstellung von Vesikeln im μm -Bereich wurde eine mit Anilinblau angefärbte Zuckerlösung durch die Ölphase zur Wasserphase getropft. Die erhaltenen Vesikel waren 1-3 μm groß und wiesen eingebautes Öl in der Membran auf. Dieses Öl bewirkte jedoch eine geringe Stabilität der Vesikel, die im Bereich von Sekunden bis Stunden lag. Die Vesikelbildung war weiterhin abhängig von der Tensidart und der gewählten Zuckerkonzentration. Die zweite untersuchte Methode bediente sich des Phasentransfers durch Zentrifugation. Hierfür wurden Emulsionen, hergestellt im Ultraschallbad, oder Mikroemulsionen zur Ölphase gegeben und die Lösungen zentrifugiert. Mithilfe der dynamischen Lichtstreuung konnte gezeigt werden, dass ein höherer Wasseranteil in der Emulsion und eine niedrigere Zentrifugationsgeschwindigkeit zu größeren Vesikeln im μm -Bereich führte. Auch eine Abhängigkeit der Vesikelgröße von Lösungsmittel und Salzgehalt der Wasserphase konnte gezeigt werden. Die Herstellung von Vesikeln durch Phasentransfer von Mikroemulsionen wies eine gegenläufige Abhängigkeit der Vesikelgröße vom Wasseranteil auf. Mithilfe von TEM-Aufnahmen konnte die Herstellung von Vesikeln bestätigt werden und mithilfe der statischen Lichtstreuung konnte eine Membrandicke von

5 Zusammenfassung

2-8 nm gemessen und berechnet werden, was auf die Unilamellarität der Vesikel schließen lässt. Durch Dichtevarianz hergestellte Vesikel im μm -Bereich wurden mikroskopisch nachgewiesen. Hierfür wurde der unteren Wasserphase Glucose und dem Wasseranteil der Emulsion Saccharose zugesetzt. Aufgrund von unterschiedlichen Dichten sanken die Emulsionstropfen unter Ausbildung von Vesikeln in die untere Wasserphase. Je größer die gewählten Zuckerkonzentration und je höher die Viskosität/ Dichte des Lösungsmittels, desto kleiner waren die erhaltenen Vesikel. Im letzten Schritt wurden Strömungsapparaturen zur Herstellung von Vesikeln entwickelt. Die erste Apparatur beruht auf dem Durchstoßen des Grenzflächenfilms und führt zu Vesikeln im mm -Bereich. Die zweite Apparatur beruht auf dem Mechanismus eines Electro-Sprays. Es zeigte sich eine Abhängigkeit der Vesikelgröße vom Wasseranteil und Lösungsmittel. Auch mit Phospholipiden sowie Span® 80 und Zusätzen von PEG 400 oder DCP konnten mithilfe dieser Apparatur Vesikel hergestellt werden.

Die Einbaueffizienz wurde durch Fluoreszenzmessungen untersucht. Hierzu wurde der selbstquenchede Fluorophor Carboxyfluorescein in die Vesikel eingebaut und die Intensität und die damit verbundene Konzentration vor und nach der Zerstörung der Vesikel durch Detergenzien untersucht. Es zeigte sich für fast alle untersuchten Methoden eine Einbaueffizienz von ca. 10%.

Zwei wesentliche Einflüsse auf die Vesikelgröße lassen sich zusammenfassen. Die Vesikelgröße ist abhängig von der Biegesteifigkeit des Tensidfilms an der Grenzfläche. Es wurde in der Literatur^[97] ein theoretisches Modell gefunden, das einen Zusammenhang zwischen der Energie der Biegesteifigkeit und der in das System eingebrachten Gravitationskraft in Abhängigkeit der Vesikelgröße beschreibt. Ein Vergleich der theoretischen und experimentellen Daten zeigte eine relativ gute Übereinstimmung. Die Vesikelgröße ist weiterhin abhängig von der Koaleszenz und Sedimentation der Emulsionstropfen. Je schneller dies erfolgt, desto breiter war die Größenverteilung der erhaltenen Vesikel. Eine Änderung der Emulsionsstabilität und damit notwendigen Transferzeit ermöglicht daher eine Anpassung der Größenverteilung der Vesikel.

Mithilfe von Phasentransferprozessen können Vesikel in einem breiten Größenbereich aus Tensiden, die eine geeignete Struktur aufweisen, hergestellt und einfach mit Wirkstoffen gefüllt werden.

6 English Summary

This thesis is focused on the production of unilamellar vesicles by phase transfer processes. Methods of colloid and interface science, as for example measurements of interfacial tension, shear rheology, static and dynamic light scattering, were applied to characterise adsorbed surfactant films at the water/ oil-interface and the size and encapsulation efficiency of the vesicles.

The kinetics of adsorption showed a decrease in interfacial tension in the chosen concentration range (above cmc) and a fast adsorption at the interface (lasting only few seconds). The plateau values of the interfacial tension (2-10 mN/m) suggest a complete occupancy of surfactant at the water/ oil-interface, which is necessary to form an intact vesicle membrane. The shear rheological properties of the surfactant films indicate strong viscous values. This enables a simple reorganization of single surfactant molecules in the film promoting the formation of a bent vesicle membrane.

Vesicles were produced by four different phase transfer methods. In all methods a water phase was covered by an oil phase. Surfactants were dissolved in the oil or in the water phase.

To produce vesicles in the size range of several μm , a solution of sugar, stained with aniline blue, was dropped through the oil into the lower water phase. The obtained vesicles were 1-3 μm in diameter and contained oil encapsulated within membrane. Such “trapped” oil induced low stabilities of the vesicles in a time interval ranging from seconds to hours. Formation of vesicles was further dependent on the type of surfactant and the chosen sugar concentration. In the second method the phase transfer was applied by centrifugation. An emulsion, generated by ultrasonication, or microemulsion, was filled into the oil phase and the solution was then centrifuged. A higher amount of water in the emulsion and a lower velocity of centrifugation resulted in a higher vesicle size, as detected by dynamic light scattering. Further, the vesicle size was dependent on the solvent and salt concentration of the water phase. The production of vesicles by phase transfer of microemulsions displayed an opposite dependence on the vesicle size related to the water amount in the emulsion. Vesicles could be characterized by TEM-measurements. Static light scattering measurements indicate membrane sizes of about 2 to 8 nm, thus suggesting the unilamellarity of the produced vesicles. Vesicles produced by density differences were observed microscopically. At this purpose, glucose was solved in the lower water phase and saccharose was solved in the drop phase of the emulsion. Due to density differences, the emulsion droplets gravitate into the

6 Summary

lower water phase forming vesicles. A higher sugar concentration and a higher solvent viscosity/ density resulted in smaller vesicles. Finally, production of vesicles in a flow field was developed. In first instance, the water droplets were forced down through the surfactant film at the interface and formed vesicles with a size range of several μm . In a second example an electro spray mechanism was used.. The vesicle size was dependent of the amount of water and the solvent. Vesicles with phospholipids and Span® 80, containing additives like PEG 400 and DCP, could be also produced.

The encapsulation efficiency was observed by fluorescence spectroscopy. The self-quenching fluorophore carboxyfluorescein was encapsulated in the vesicles and subsequent discharged by adding a detergent. The intensity and correlated concentration of the vesicle and vesicle/ detergent solutions were measured. An encapsulation efficiency of about 10% could be achieved for all observed methods.

Two important parameters for the vesicles size can be summarised. The vesicles size is dependent on the bending elasticity of the surfactant film at the interface. Theoretical approaches are reported in the literature^[97], which correlate the energy of the bending elasticity with the gravitational force inserted in the system in relation to the vesicle size. Experimental data are in good agreement with the expected theoretical values. Furthermore, the vesicle size is dependent on the coalescence and sedimentation of the emulsions droplets. The faster these processes occur the broader is the observed size distribution of the vesicles. A change in the stability of the emulsion and the related transfer time offers the possibility to customize the vesicle size distribution.

By phase transfer processes, vesicles of surfactants with applicable structure in a broad size range can be produced and easily filled.

7 Ausblick

Die vorgestellten Ergebnisse weisen auf die vielfältige Anwendbarkeit von Vesikeln als definierte, funktionelle kolloidale Aggregate hin. Die Methode des Phasentransfers zur Herstellung von Vesikeln ermöglicht eine einfache Größenvarianz unilamellarer Vesikel und einen einfachen Wirkstoffeinbau in die Vesikel.

Weitere Forschungsarbeiten sollten ihren Schwerpunkt auf die Steigerung der Ähnlichkeit mit körpereigenen Zellmembranen setzen um u.a. die Verträglichkeit *in vivo* zu steigern und die Wechselwirkungen der eingebauten Wirkstoffe mit Krebszellen zu erhöhen. Hierfür sind zwei Schritte notwendig.

In einem ersten Schritt müssen die Vesikelmembranen asymmetrisch aufgebaut werden. Hierfür können unterschiedliche Tenside für den Aufbau der inneren und äußeren Membran verwendet werden. Werden z.B. zwei Lösungsmittel mit unterschiedlicher Dichte und unterschiedlich gelösten Tenside verwendet, adsorbieren verschiedene Tensidfilme an die Tropfen- und die Öl/Wasser-Grenzfläche. Durch einen Phasentransfer ist es dann möglich asymmetrische Vesikelmembranen auszubilden^[96]. Werden unterschiedliche Phospholipide in einer Ölphase gelöst, können sich in den adsorbierten Filmen bzw. der Vesikelmembran ebenfalls unterschiedliche Domänen ausbilden, die je nach Temperatur kristallin oder fluid nebeneinander vorliegen können.

In einem zweiten Schritt ist der Einbau von Proteinen in die Vesikelmembran notwendig. Dies erhöht u.a. die Wechselwirkungen der synthetisierten Vesikel mit Krebszellen oder Organen *in vivo*. Proteine können auch eine definierte Porenbildung in der Vesikelmembran forcieren und damit einen Reaktionsraum permeabel für Produkte machen^[9]. Dies würde die Ausbeute eines Produktes aufgrund der Verschiebung des Reaktionsgleichgewichtes stark erhöhen. Auch organisch synthetisierte Moleküle, die aus hydrophilen und hydrophoben Einheiten aufgebaut sind, können in die Vesikelmembran eingebaut und dort gesteuert werden^[198].

Eine Möglichkeit, die in weiteren Forschungsarbeiten untersucht werden sollte, verbindet beide Schritte miteinander. Werden kleine, unilamellare Phospholipid-Vesikel in einer wässrigen Phase gelöst, die an eine Ölphase grenzt, adsorbiert ein Teil der Phospholipide an die Grenzfläche^[199]. Dies ermöglicht auch die Verwendung nicht öllöslicher Phospholipide und Tenside. Werden bei der Herstellung der SUV bereits Proteine in die Vesikel eingebaut,

7 Ausblick

adsorbieren auch diese an die Grenzfläche. Da sie sich zwischen den Phospholipiden befinden, bleibt dabei ihre Konfiguration erhalten. Werden so erzeugte Emulsionstropfen durch eine Grenzfläche transferiert, ist die Herstellung von definierten Vesikeln möglich (Abb. 7.1). Ein ähnliches Verfahren zur Herstellung von Vesikeln mithilfe von „black lipid membranes“ ist vor kurzem in der Referenz^[200] beschrieben worden. Durch die Verwendung unterschiedlicher Phospholipide in den zwei wässrigen Phasen ist auch eine Asymmetrie der Vesikel und evtl. auch ein Transfer an Luft/ Wasser-Grenzflächen möglich.

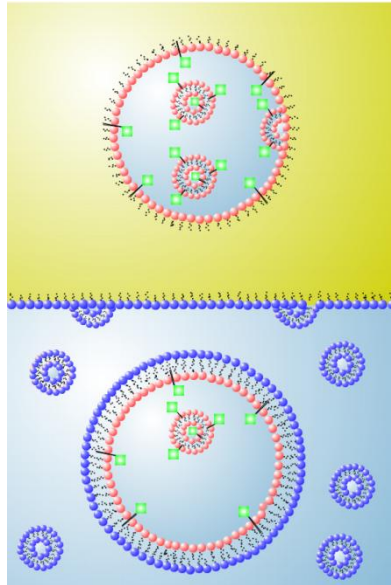


Abb. 7.1 Schematische Darstellung der Herstellung eines asymmetrischen Vesikels, mit eingebauten Proteinen, durch Adsorption von Phospholipiden von kleinen, unilamellaren Vesikeln und anschließendem Phasentransfer.

Zum genaueren Verständnis dieser Vesikelherstellung müssen die Adsorptionskinetik der Phospholipide an die Grenzschicht und die Wechselwirkungen möglicher eingebauter Wirkstoffe mit den kleinen, unilamellaren Vesikeln und Membranproteinen untersucht werden.

Die oben beschriebene, modifizierte Methode des Phasentransfers würde die direkte Herstellung von zellähnlichen Vesikeln ermöglichen. Dabei kann, wie die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, die Größe der Vesikel modifiziert und der Einbau von Wirkstoffen leicht ermöglicht werden. Die Vesikel können aufgrund ihrer Ähnlichkeit mit Zellmembranen und einer damit verbundenen besseren Verträglichkeit *in vivo* eine potentielle Anwendung in der Pharmazie, Medizin, Lebensmittelindustrie, u.a. finden.

8 Materialien und Methoden

8.1 Chemikalien

Bis(2-ethylhexyl)sulfosuccinat Natriumsalz (AOT, Fluka, >96%), Sorbitanmonooleat (Span® 80, Fluka), Sorbitanmonolaurat (Span® 20, Sigma), Asolectin (Fluka), Decyltrimethylammoniumbromid (DTABr, Aldrich, ≥98%), Natriumdodecylsulfat (SDS, Sigma Aldrich, >99%), Polyethylenglycol Sorbitanmonolaurat (Tween® 20, Sigma), Polyethylenglycol, Sorbitanmonooleat (Tween® 80, Sigma), Dihexadecylphosphat (Sigma), Polyethylenglycol 400 (Fluka), Polyethylenglycol tert-octylphenylether (Triton® X-100, Fluka), Cholesterin (Fluka, ~97%), Caprinsäure (Fluka, >98%), Laurinsäure (Merck), Laurylalkohol (Aldrich, ≥98%), Ölsäure (Fluka, ~65%), Palmitinsäure (Sigma, 99%), Stearinsäure (Prolabo, ≥97%), Stearylamin (Fluka, ≥98%), Dodecan (Alfa Aesar, >99%), Tetradecan (Merck), Hexadecan (Merck), Chloroform (Merck, p.a.), Olivenöl (Fluka), 2,2,4-Trimethylpentan (Isooctan, Sigma-Aldrich, 99.8%), Butanol (Sigma-Aldrich, >99%), Cyclohexan (Merck, p.a.), Ethanol (Merck, p.a.), n-Heptan (Merck), Toluol (Merck), p-Xylol (Merck), Natriumchlorid (NaCl, Sigma, >99%), Tris(hydroxymethyl) aminomethan (Tris, Sigma, >99.8%), Kaliumdihydrogenphosphat (Sigma, ≥99%), Dikaliumhydrogenphosphat (Sigma, ≥98%), D+ Saccharose (BDH Prolabo, p.a.), D+ Glucose (Fluka, >99%), 5(6)-Carboxyfluorescein (Sigma, >95%), Ammoniumheptamolybdat Tetrahydrat (Merck, p.a.), Natronlauge (NaOH, Merck, p.a.), Saccharoseacetatisobutytrat (Aldrich), Anilinblau (Chroma), Methylblau (Sigma, >60% Farbanteil)

Alle Chemikalien wurden ohne vorherige Reinigung eingesetzt. Wasser wurde aus einer Reinstwasseranlage von Milipore (Synergy 185) verwendet.

8.2 Grenzflächencharakterisierung

Pendant-Drop-Methode

Die Adsorptionskinetik wurde mit Hilfe der Methode des hängenden Tropfens (vgl. Abschnitt 3.1.1) untersucht. Hierzu wurden ca. 5-10 mL Lösungsmittel in eine Küvette gefüllt und mit Hilfe einer Spritze ein Tropfen der wässrigen Lösung im Lösungsmittel erzeugt. Untersucht wurden die Lösungsmittel Decan, Dodecan, Tetradecan und Hexadecan.

8 Materialien und Methoden

Für die Untersuchung der öllöslichen Tenside wurden Span® 80 (1.1, 2.3 und 11 mmol/L), AOT (0.1, 1 und 10 mmol/L) zuvor im Lösungsmittel gelöst. Asolectin (0.1, 1 und 10 wt%) wurde zuerst in Chloroform aufgenommen, welches unter einem Argonstrom verdampft wurde. Anschliessend wurde es durch Rühren im Lösungsmittel gelöst. Als wässrige Phase diente ein TBS-Puffer (100 mmol/L NaCl, 5 mmol/L Tris).

Für die Untersuchungen der wasserlöslichen Tenside wurden SDS (1, 10 und 100 mmol/L), DTABr (10, 100 und 1000 mmol/L) und Tween® 20 (0.1, 1 und 10 wt%) in Wasser gelöst. Die Lösungsmittel wurden rein eingesetzt.

Für die Untersuchungen der Spreitung der Fettsäuren (Laurin-, Palmitin- und Stearinsäure) wurde ein Kristall zwischen Spritze und Kanüle eingebracht und ein Wassertropfen durch Durchspülen des Kristalls erzeugt. Die Messung erfolgt ohne Lösungsmittel an Luft.

Gemessen wurde die Grenzflächenspannung in Abhängigkeit der Zeit bis zum Zeitpunkt des Tropfenabfalls.

Spinning-Drop-Methode und Grenzflächenspannung mit Hilfe der WILHELMY-Platte und des DE NOÛY-Rings

Weitere Grenzflächenspannungen erfolgten mit Hilfe der Spinning Drop-Methode und des Tensiometers mit der WILHELMY-Platte und dem DE NOÛY-Ring (vgl. Abschnitt 3.1.2 und 3.1.3). Die verwendeten Lösungsmittel, Tenside und Tensidkonzentrationen sind identisch mit den Untersuchungen am hängenden Tropfen.

Bei der Spinning Drop-Methode wird zunächst die wässrige Phase in die Küvette gefüllt und in die Apparatur eingebracht. Mit Hilfe einer Spritze wird ein Tropfen der Ölphase in die Wasserphase injiziert und die Rotation gestartet. Ist ein einzelner Tropfen gut erkennbar und zentriert, erfolgen die Messungen der Grenzflächenspannungen bei Rotationsgeschwindigkeiten von 1000 – 6000 rpm und einen Zeitraum von ca. 300 s.

Bei der Methode der Grenzflächenspannung mit Hilfe der WILHELMY-Platte oder des DE NOÛY-Rings wurden ca. 40 mL wässrige Phase vorsichtig mit ca. 40 mL Ölphase überschichtet. Der Zeitraum der Messungen betrug jeweils ca. 60 min. Für die Messungen der Spreitung von Fettsäurekristallen wurde der Messbecher mit ca. 70 mL Wasser gefüllt und Fettsäurekristalle (0.14, 0.7, 1.4, 7, 14 mg) aufgebracht. Die Messungen erfolgten über einen Zeitraum von mindestens 12 h.

Oberflächenpotential

Das Oberflächenpotential wurde mit Hilfe einer Kelvin-Sonde gemessen (vgl. Abschnitt 3.1.5). Hierfür wurden ca. 10 mL wäßrige Phase (TBS-Puffer) in den Messbecher gefüllt und die Spannung auf den Wert 0 mV kalibriert. Anschließend wurden ca. 10 mL der Ölphase (Decan, Dodecan, Tetradecan, Hexadecan) mit Tensid (1, 10 und 100 mmol/L Span® 80, 10 mmol/L AOT, 1 wt% Asolectin) vorsichtig darüber geschichtet und die Messung für 12 h gestartet. Für wasserlösliche Tenside (10 mmol/L SDS, 10 mmol/L DTABr, 1wt% Tween® 20) wurde die Kalibrierung zunächst ohne Lösungen durchgeführt. Anschließend wurden ca. 10 mL der wäßrigen Tensidlösung in den Messbecher gefüllt und die Messung gestartet. Die Überschichtung der Ölphase erfolgte nach der Ausbildung eines Plateaus der ersten Messwerte.

Torsionspendel

Die scherrheologischen Eigenschaften erfolgten mit Hilfe eines Torsionspendels (vgl. Abschnitt 3.1.4). In das Messgefäß wurden 40 mL der wäßrigen Phase gefüllt. Der Doppelkegel wurde auf die Oberfläche aufgebracht ohne einen Meniskus auszubilden und ca. 20 mL der Ölphase darüber geschichtet. Der Kegel wurde um ca. 1.5° ausgelenkt und der Messzeitraum betrug 12 h. Die Lösungsmittel, Tenside und Tensidkonzentrationen entsprechen den Untersuchungen am hängenden Tropfen. Kalibriermessungen erfolgen mit TBS-Puffer oder reinem Wasser und dem reinen Lösungsmittel, jeweils über einen Zeitraum von 30 min.

8.3 Vesikelherstellung

Riesenvesikel

Für die Herstellung der Riesenvesikel wurden ca. 5 mL wäßrige Phase (TBS-Puffer, 100 mmol/L NaCl, 5 mmol/L Tris) in eine Küvette gefüllt und mit einer 30 wt% Saccharose-Lösung (in TBS-Puffer) unterschichtet. Für die Ölphase wurden die Tenside Span® 80 (0.1, 1 und 10 mmol/L), AOT (0.1, 1 und 10 mmol/L) im Lösungsmittel (Decan, Dodecan, Tetradecan, Hexadecan, Olivenöl) gelöst. Asolectin (1 wt%) wurde in Chloroform aufgenommen, welches unter einem Argonstrom verdampft wurde. Anschließend wurde das Phospholipid durch Rühren im Lösungsmittel gelöst. Ca. 5 mL Ölphase wurde vorsichtig über die Wasserphase geschichtet. Als zweite wäßrige Lösung diente eine Saccharose-Lösung (1,

8 Materialien und Methoden

5, 10, 15 und 20 wt%), welche mit Anilinblau angefärbt wurde. Mit Hilfe eine Spritze (Kanüldurchmesser 1.35 mm) wurde ein Tropfen der zweiten wäßrigen Lösung in der Ölphase erzeugt und gewartet bis dieser sich von der Kanülenspitze löste und die Grenzfläche passierte.

Für die Untersuchung von wasserlöslichen Tensiden wurde anstelle des TBS-Puffers das Tensid SDS (10 mmol/L) in reinem Wasser ohne Zusätze von NaCl oder Tris gelöst und ggf. mit Saccharose und Anilinblau versetzt.

Zentrifugation

Zur Herstellung der Vesikel mittels Zentrifugation wurden 3 mL der wäßrigen Phase (TBS-Puffer) mit 2 mL einer Ölphase vorsichtig überschichtet. Die Ölphase bestand aus dem Lösungsmittel Decan, Dodecan, Tetradecan oder Hexadecan und den Tensiden Span® 80 (1, 10 und 100 mmol/L), AOT (0.1, 1 und 10 mmol/L) und Asolectin (0.1, 1 und 10 wt%). Letzteres wurde zunächst in Chloroform aufgenommen, welches unter einen Argonstrom verdampft wurde und anschließend im Lösungsmittel suspendiert. Die wasserlöslichen Tenside SDS (1, 10 und 100 mmol/L), DTABr (1, 10 und 100 mmol/L) sowie Tween® 20 (0.1, 1 und 10 wt%) wurden in reinem Wasser gelöst und ohne weitere Zusätze von NaCl und Tris verwendet. Als Ölphase dienten hierbei die reinen Lösungsmittel.

Für die Herstellung einer W/O-Emulsion wurde die wäßrige Phase (0.5, 1, 5 und 10 v1%) zu 1 mL Ölphase gegeben und diese Lösung 15 min einem Ultraschallbad ausgesetzt. Die Lösung wurde zur Ölphase im Zentrifugenröhrchen gefüllt und die Zentrifugation für einen Zeitraum von 15 oder 30 min bei Geschwindigkeiten von 200, 600, 1400 und 3000 g durchgeführt.

Für die Herstellung von Vesikeln aus Mikroemulsionen wurden verschiedene Zusammensetzungen aus der Literatur herausgesucht^[116,201-204]. Das Zentrifugenröhrchen wurde wie oben beschrieben befüllt und die Zentrifugation 15 min bei 3000 g durchgeführt.

Mikroemulsion 1: 140 mmol/L AOT wurden in Isooctan oder n-Heptan gelöst und als Ölphase verwendet. Zur Herstellung der Mikroemulsion wurden 4.2 v1% Wasser zur Ölphase gegeben. Alternativ wurden 198 mmol/L AOT in Toluol gelöst und als Ölphase verwendet. Für die Herstellung der Mikroemulsion wurden 0.9 v1% Wasser zur Ölphase gegeben.

Mikroemulsion 2: 66 mmol/L Span® 80 wurden in Cyclohexan gelöst und als Ölphase verwendet. Zur Herstellung der Mikroemulsion wurden 9 v1% Wasser zur Ölphase gegeben.

8 Materialien und Methoden

Mikroemulsion 3: 391 mmol/L Span® 80 und 133 mmol/L Tween® 80 oder 596 mmol/L Span® 20 und 97 mmol/L Tween® 80 wurden in Decan gelöst und als Ölphase verwendet. Zur Herstellung der Mikroemulsion wurden 4.76 v1% Wasser zur Ölphase gegeben und bei 700 rpm bis zur Transparenz der Lösung gerührt.

Mikroemulsion 4: 387 mmol/L Span® 80 und 134 mmol/L Tween® 80 wurden in Hexadecan gelöst und als Ölphase verwendet. Zur Herstellung der Mikroemulsion wurden 2.9 v1% Phosphatpuffer (10 mmol/L Kaliumdihydrogenphosphat, 10 mmol/L Dikaliumhydrogenphosphat) zur Ölphase gegeben.

Dichtevarianz

In ein Zentrifugenröhrchen wurden 3.4 ml wäßrige Phase (TBS-Puffer) gefüllt und mit 2 mL Ölphase vorsichtig überschichtet. Die Emulsion wurde aus 1.6 mL Ölphase und 2.2, 6.25 und 37.5 v1% wäßriger Phase durch Durchmischen mit der Pipette hergestellt und zur Ölphase im Zentrifugenröhrchen gefüllt. Vor Entnahme der Vesikel wurde ein Zeitraum von 15 min für den Phasentransfer gewartet.

Als Tenside wurden 15 mmol/L AOT, 10 mmol/L Span® 80 oder 1 wt% Asolectin der Ölphase (Decan, Dodecan, Tetradecan, Hexadecan) zugesetzt. Das Asolectin wurde zunächst in Chloroform aufgenommen, welches unter einem Argonstrom verdampft wurde und anschließend im Lösungsmittel suspendiert. Die Untersuchung mit Membransubstraten bestand aus 1 mmol/L DCP oder 1 mmol/L DCP und 10 mmol/L Span® 80 in Heptan/Ethanol (10:1) oder 10 mmol/L Span 80 und 1 wt% PEG 400 in p-Xylol. Das wasserlösliche Tensid SDS (10 und 100 mmol/L) wurde ohne Zusätze von NaCl und Tris direkt in reinem Wasser gelöst und als wäßrige Phase verwendet.

Die untere wäßrige Phase erhielt als Zusatz 0, 1, 10, 100 und 1000 mmol/L Glucose. Die wäßrige Phase der Emulsion erhielt als Zusatz 0, 1, 10, 100 und 1000 mmol/L Saccharose. Die Zuckerkonzentrationen beider Lösungen wurden bei jeder Vesikelherstellung gleich gehalten.

Strömungsapparaturen

Für die 1. Strömungsapparatur (vgl. Abschnitt 4.2.4) wurden die Tenside Span® 80 (10 mmol/L) und AOT (10 mmol/L) in Dodecan verwendet. Es wurde ca. 100 mL einer wäßrigen Phase (TBS-Puffer) bis knapp über dem Wasserkanal im Glasgefäß vorgelegt und mit ca. 50 mL Ölphase überschichtet. Mit Hilfe einer Spritzenpumpe wurden Tropfen der wäßrigen Phase, angefärbt mit Anilinblau, mit Geschwindigkeiten von mindestens 2.5 mL/h in der Ölphase erzeugt. Der angelegte Volumenstrom des Wassers zum Abtransport der Vesikel betrug mindestens 10 mL/ min.

Für die Electrospray-Apparatur wurden ca. 12 mL der wäßrigen Phase (TBS-Puffer) in das Becherglas bis knapp unterhalb der Ringelektrode gefüllt. Diese wurde mit weiteren 12 mL Ölphase überschichtet und der Ausgang der Spritzenkanüle (Durchmesser: 0.65 mm) knapp unterhalb der Öl-/Luftgrenzfläche angebracht. Als Ölphase dienten 15 mmol/L AOT, 10 mmol/L Span® 80 und 1 wt% DLPC bzw. DMPC in Decan, Dodecan, Tetradecan und Hexadecan. DLPC und DMPC wurden zunächst in Chloroform aufgenommen, welches unter einen Argonstrom verdampft wurde und anschließend im Lösungsmittel durch Rühren gelöst. Weiterhin wurden die Systeme 1 mmol/L DPC und 10 mmol/L Span® 80 mit 1 mmol/L DCP in Heptan/ Ethanol (10:1), 10 mmol/L Span® 80 und 1 wt% PEG 400 in p-Xylol, 10 mmol/L Laurinsäure/ 10 mM Caprinsäure und 10 mmol/L Ölsäure sowie 10 mmol/L Span® 80 mit 10 mmol/L Laurinsäure und 10 mmol/L Span® 80 mit 10 mmol/L Laurylalkohol in Dodecan, 10 mmol/L Span® 80 mit 10 mmol/L Cholesterin sowie 10 mmol/L Span® 80 mit 10 mmol/L Cholesterin und 1 mmol/L Stearylamin in Dodecan, 74.6 mmol/L Span® 80 mit 12.2 mmol/L Tween® 80 sowie 10 mmol/L Tween® 80 in Dodecan, 10 mmol/L Span® 20 sowie 10 mmol/L Span® 20 mit 10 mmol/L Cholesterin in Dodecan, 10 mmol/L Span® 20 und 1 mmol/L DCP in Heptan/ Ethanol (10:1) untersucht. Als wäßrige Tenside wurden 10 mmol/L SDS (Ölphase: Dodecan) und 10 mmol/L SDS mit 1 mmol/L Butanol (Ölphase: Toluol) in reinem Wasser ohne Zusätze von NaCl und Tris gelöst.

Variiert wurde die angelegte Spannung (1, 2 und 5 kV) und die Zutropfgeschwindigkeit der Spritzenpumpe (0.1, 0.5, 2, 5 und 8 mL/h) sowie die zugetropfte Wassermenge (2, 4 und 7.7 v1%).

Vesikelherstellung an Wasser-/ Luftgrenzflächen

Ein Becherglas wurde mit ca. 15 mL Wasser gefüllt und mehrere Fettsäurekristalle darauf gegeben. Ein Fettsäurekristall wurde zwischen Spritze und Kanüle eingebracht und die Wasserphase mit Anilinblau angefärbt. An der Kanülenspitze wurde ein Wassertropfen an Luft erzeugt und in die untere Wasserphase getropft.

8.4 Untersuchungen von Emulsionen

Zur Untersuchung der Stabilität der Emulsionen wurde zu verschiedenen Ölphasen (Decan, Dodecan, Tetradecan, Hexadecan) eine wäßrige Phase (TBS-Puffer, 0.5, 1, 5 und 10v1%) gegeben und die Emulsion durch 15 min Ultraschallbad hergestellt. Die Messung erfolgt mittels dynamischer Lichtstreuung über einen Zeitraum von 300 s in 30 s Intervallen. Als Tenside wurden Span® 80 (1, 10, 100 mmol/L), AOT (0.1, 1, 10 mmol/L) und Asolectin (0.1, 1, 10 wt%) eingesetzt. Asolectin wurde zunächst in Chloroform aufgenommen, welches in einem Argonstrom verdampft wurde und anschließend durch Rühren im Lösungsmittel gelöst. Die Untersuchung der wasserlöslichen Tenside SDS (1, 10, 100 mmol/L), DTABr (1, 10, 100 mmol/L) und Tween® 20 (0.1, 1, 10 wt%) erfolgte durch Lösen in reinem Wasser ohne Zugabe von NaCl und Tris.

Für die Untersuchungen der Koaleszenz- und Sedimentationsgeschwindigkeit wurden Videos der Zersetzung von 3.5 mL Emulsion in einer Küvette aufgenommen. Die Ölphase setzte sich aus Dodecan, Tetradecan oder Hexadecan zusammen, in der 10 mmol/L AOT oder 10 mmol/L Span® 80 gelöst waren. Der Volumenanteil der wäßrigen Phase (TBS-Puffer) betrug 10, 20 oder 30 v1%. Die Emulgierung erfolgte durch einfaches Durchmischen mit der Pipette oder für 15 min im Ultraschallbad.

Für die Untersuchung der Emulsionstropfengröße der Electrospray-Apparatur wurden 15 mmol/L AOT in Olivenöl gelöst und 4 v1% wäßrige Phase (TBS-Puffer) emulgiert. Es wurde eine Zutropfgeschwindigkeit von 2 mL/h und eine Spannung von 1 kV vorgelegt.

8.5 Experimentelle und analytische Methoden

Probenpräparation für TEM-Aufnahmen

Für die TEM-Aufnahmen wurden Kohlenstoff-bedampfte Kupfer-Träger mit einer Maschendichte von 300 verwendet. Ca. 50 μL der Vesikellösung wurde auf den Träger aufgebracht und 30 s für die Adsorption der Vesikel an der Trägeroberfläche gewartet. Die restliche Vesikellösung wird vorsichtig mit einem Filterpapier entfernt und ca. 50 μL 2% wäßrige Ammoniumheptamolybdat-Lösung (pH 7, eingestellt mit NaOH) auf den Träger aufgebracht. Nach 60 s wurde auch diese Lösung vorsichtig mit einem Filterpapier entfernt und der Träger bis zum vollständigen Trocknen auf eine Teflonplatte gelegt.

Fluoreszenzmessungen

Für die Bestimmung der Einbaueffizienz wurde bei der Vesikelherstellung die wäßrige Phase der Emulsion durch eine Lösung aus 100 mmol/L Carboxyfluorescein und 5 mmol/L Tris ersetzt. Die Messung erfolgte bei einer Anregungswellenlänge von $\lambda_{\text{ex}} = 492 \text{ nm}$. Zur Freisetzung des eingebauten Fluorophors wurde der Vesikellösung 5 v1% einer wäßrigen Triton X-100 Lösung (20 v1%) zugegeben und anschließend ein weiteres Fluoreszenzspektrum mit identischer Anregungswellenlänge aufgenommen. Ein drittes Spektrum nach Verdünnung der zu untersuchenden Lösung diente zur Überprüfung der Freisetzung des Fluorophors. Die Auswertung erfolgte durch Intensitätswerte bei einer Wellenlänge von $\lambda_{\text{em}} = 517 \text{ nm}$.

π/A -Isothermen

Zur Messung der π/A -Isothermen wurden 10 mmol/L AOT oder 2 mg/mL Fettsäure (Laurin-, Palmitin- und Stearinsäure) in Chloroform gelöst. In das Messgefäß wurden ca. 450 mL TBS-Puffer (Untersuchung von AOT, 0, 50, 100, 150, 200, 250 mmol/L NaCl und 5 mmol/L Tris) oder reines Wasser (Untersuchung der Fettsäuren) gegeben und ca. 120 μL der Chloroformlösung auf die Wasseroberfläche aufgebracht. Nach einer Wartezeit von ca. 5 min wurde die Filmkompression mit einer Geschwindigkeit von 10 cm s^{-1} gestartet. Für die Untersuchung der AOT-Filme wurden jeweils 2-3 Zyklen der Filmkompression und –dekompression durchgeführt.

Viskositätsmessungen

10 mL Vesikellösung, hergestellt mittels Zentrifugation, wurden in den Probenbehälter für das Schwingplatten-Viskosimeter (A&D, Tokio, Japan) bei ca. 20-23°C vermessen.

8 Materialien und Methoden

Die Viskosität von Lösungen, die durch Zutropfen durch Fettsäurefilme entstanden sind, wurden bei einer konstanten Scherung von 10 s^{-1} über einen Zeitraum von mindestens 12 h mit einem Couette-System vermessen (Rheometrics RFS II, TA Instruments, Eschborn, Deutschland).

Dichtemessungen

Jeweils 90 mL einer wässrigen Lösung, bestehend aus 100 mmol/L NaCl, 5 mmol/L Tris und 1, 10, 100, 1000 mmol/L Saccharose oder 1, 10, 100, 1000 mmol/L Glucose wurden in den Probenbehälter gefüllt und mit dem Prozess Tensiometer K12 der Firma Krüss mithilfe eines standardisierten Gewichtes gemessen.

Dynamische und Statische Lichtstreuung sowie Zeta-Potential

Für die dynamische Lichtstreuung am Brookhaven BI-200 SM wurden 2-3 mL Vesikel- oder Emulsionslösung verwendet und bei 90° mit einer Zählrate von ca. 200 bei 23°C vermessen.

Für die statische Lichtstreuung wurde eine Verdünnungsreihe mit 4 Konzentrationen der Vesikellösungen hergestellt und diese jeweils bei 30° , 50° , 70° , 90° , 110° , 130° und 150° bei 23°C und einer maximalen Zählrate von 1.5 Mcps vermessen. Die Kalibrierung erfolgte mit Toluol.

Für die Messung des Zeta-Potentials wurde ca. 1 mL Vesikel- oder Mikroemulsionslösung in eine Messküvette gefüllt und mit Hilfe des Lichtstreugerätes ZS Nano (Malvern, Herrenberg, Deutschland) vermessen.

Mikroskopie

Für die mikroskopischen Untersuchungen wurden ca. 50 – 100 μL der Lösung auf einen Objektträger aufgebracht. Die Methode des differentiellen Interferenzkontrastes erfolgte mit einem 60x Objektiv (PlanApo), die Phasenkontrastmethode wurde mit einem 40x Objektiv (UPlan Fl) durchgeführt. Für Größenuntersuchungen von Emulsionen wurde ein 4x Objektiv (E A4) verwendet. Die Auswertung der Größen erfolgte mit Hilfe des Programms ImageJ (Version 1.44).

Sonstiges

Die Bilder- und Videoaufnahmen mit Hilfe des Questar erfolgten in einfach fluoreszenzküvetten (Länge 10 mm) mit einer einfachen Vergrößerung bei einem ungefähren Abstand von 50 cm zwischen Probe und Objektiv.

8 Materialien und Methoden

Die Videoaufnahmen erfolgten mit einer Hochgeschwindigkeitskamera Panasonic F15 (Hamburg, Deutschland) und die Bildaufnahmen mit einer Sony DSC-W12 (Berlin, Deutschland).

9 Literaturverzeichnis

1. van Meer, G.; Voelker, D. R.; Feigenson, G. W. *Nature* (2008) 9, 112-124
2. Leng, J.; Egelhaaf, S. U.; Cates, M. E. *Europhys. Letters* (2002) 59, 2, 311-317
3. Uchegbu, I. F.; Vyas, S. P. *Int. J. Pharm.* (1998) 172, 33-70
4. Döbereiner, H. G.; Käs, J. et. al. *Biophys. J.* (1993) 65, 1396-1403
5. Markvoort, A. J.; Smeijers, A. F. et. al. *J. Phys. Chem. B* (2007) 111, 5719-5725
6. Bayindir, Z. S.; Yuksel, N. *J. Pharm. Sci.* (2009) 99, 4, 2049-2059
7. Lim, H. J.; Masin, D. et. al. *J. Pharm. Exper. Therapeutics* (2000) 292, 1, 337-345
8. Balazsovits, J. A. E.; Mayer, L. D. et. al. *Cancer Chemother. Pharmacol.* (1989) 23, 81-86
9. Noireaux, V.; Libchaber, A. *PNAS* (2004) 101, 51, 17669-17674
10. Reeves, J. P.; Dowben, R. B. *J. Cell. Physiol.* (1968) 73, 49-60
11. Angelova, M. I.; Dimitrov, D. S. *Faraday Discuss. Chem. Soc.* (1986) 81, 303-311
12. Funakoshi, K.; Suzuki, H.; Takeuchi, S. *JACS* (2007) 129, 12608-12609
13. Hayward, R. C.; Utada, A. S. et. al. *Langmuir* (2006) 22, 10, 4458-4461
14. Pautot, S.; Frisken, B. J.; Weitz, D. A. *Langmuir* (2003) 19, 2870-2879
15. Dörfler, H. D. *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme* (2002) Springer, Berlin
16. Eastoe, J.; Dalton, J. S. *Adv. Colloid Interface Sci.* (2000) 85, 103-144
17. Czeslik, C.; Seemann, H.; Winter, R. *Basiswissen Physikalische Chemie* (2001) Teubner, Stuttgart
18. Leermakers, F. A. M.; Eriksson, J. C.; Lyklema J. *Fundamentals of Interface and Colloid Science, Vol. V, Chap. 4*, (2005) Elsevier, Amsterdam
19. Fainerman, V. B.; Miller, R.; Makievski, A. V. *Langmuir* (1995) 11, 3054-3060
20. Fainerman, V.B.; Mys, V. D. et. al. *J. Colloid Interface Sci.* (2006) 302, 40-46
21. Vollhardt, D. *Adv. Colloid Interface Sci.* (1996) 64, 143-171
22. Jacquemain, D.; Wolf, S. G. et. al. *Angew. Chem.* (1992) 104, 134-158
23. Vollhardt, D. *Adv. Colloid Interface Sci.* (1999) 79, 19-57
24. Volinsky, R.; Gaboriaud, F. et. al. *J. Phys. Chem. B* (2002) 106, 9231-9236

25. Langmuir, I. *JACS* (1917) 57, 1848-1906
26. Kaganer, V. M.; Möhwald, H.; Dutta, P. *Reviews of Modern Physics* (1999) 71, 3, 779-819
27. Degen, P. *Dissertation* Technische Universität Dortmund (2008)
28. Appell, J.; Porte, G. et. al. *H. Phys. II France* (1992) 2, 1045-1052
29. Bulut, S.; Hamit, J. et. al. *Eur. Biophys. J. E* (2008) 27, 261-273
30. Schurtenberger, P.; Cavaco, C. *Langmuir* (1996) 12, 2894-2899
31. Israelachvili, J. N.; Mitchell, D. J.; Ninham, B. W. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. II* (1976) 72, 1525-1568
32. Rand, R. P.; Chapman, D.; Larsson, K. *Biophys. J.* (1975) 15, 1117-1124
33. Skouri, M.; Marignan, J.; May, R. *Colloid & Polymer Science* (1991) 269, 929-937
34. Grillo, I.; Kats, E. I.; Muratov, A. R. *Langmuir* (2003) 19, 4573-4581
35. Lasic, D. *Liposomes. From Physics to Applications* (1993) Elsevier, Amsterdam
36. Fuhrhop, J.-H.; Helfrich, W. *Chem. Rev.* (1993) 93, 1565-1582
37. Puvvada, S.; Blankschtein, D. *J. Chem. Phys.* (1990) 92, 6, 3710-3724
38. Yin, H.; Lin, Y. et. al. *Langmuir* (2007) 23, 4225-430
39. Lewis, B. A.; Das Gupta, S. A.; Griffin, R. G. *Biochemistry* (1984) 23, 1988-1993
40. Hauser, H.; Gains, N. et. al. *Biochemistry* (1986) 25, 2126-2134
41. Vlachy, N.; Renoncourt, A. et. al. *J. Colloid Interface Sci.* (2008) 320, 360-363
42. Giulieri, F.; Krafft, M. P. *J. Colloid Interface Sci.* (2003) 258, 335-344
43. Buwalda, R. T.; Stuart, M. C. A.; Engberts, J. B. F. N. *Langmuir* (2000) 16, 6780-6786
44. Tanford, C. *The hydrophobic effect* (1973) Wiley, New York
45. Luisi, P. L.; Walde, P. *Giant vesicles. Perspectives in supramolecular chemistry* (2000) Wiley, Chicester
46. Johnston, M. J. W.; Edwards, K. et. al. *J. Liposome Research* (2008) 18, 145-157
47. Agnihotri, S. A.; Soppimath, K. S.; Betageri, G. V. *Drug Delivery* (2010) 17, 2, 92-101
48. Leonhard, H. *Dissertation* Universität Essen (1997)
49. Brückner, E. *Dissertation* Universität Essen (2000)
50. Seifert, U. *Advances in Physics* (1997) 46, 1, 13-137

51. Seifert, U. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* (1996) 1, 350-357
52. Träuble, H. *Die Naturwissenschaften* (1971) 58, 6, 277-284
53. Brückner, E.; Sonntag, P.; Rehage, H. *Langmuir* (2001) 17, 2308-2311
54. Kralj-Iglic, V.; Gomiscek, G. et. al. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* (2001) 181, 315-318
55. Hou Lin, L. F.; Bartlett, C.; Lees, M. B. *J. Biol. Chem.* (1986) 261, 34, 16241-16246
56. Israelachvili, J. N. *Intermolecular and Surface Science* (1985) Academic Press, London
57. Kornberg, R. D.; McConnell, H. M. *Biochemistry* (1971) 10, 7, 1111-1120
58. Wimley, W. C.; Thompson, T. W. *Biochemistry* (1990) 29, 5, 1296-1303
59. Homan, R.; Pownall, H. J. *Biochim. Biophys. Acta* (1988) 938, 155-166
60. Helfrich, W. *Z. Naturforsch.* (1973) 28 c, 693-703
61. Ericksen, J. L. *Archive for Rational Mechanics and Analysis* (1970) 37, 2, 73-84
62. Oversteegen, S. M.; Leermakers, F. A. M. *Phys. Rev. E* (2000) 62, 6, 8453-8461
63. Evans, E.; Rawicz, W. *Phys. Rev. Lett.* (1990) 64, 17, 2094-2097
64. Needham, D.; Evans, E. *Biochemistry* (1988) 27, 8261-8269
65. Frank, F. C. *Discuss. Faraday Soc.* (1958) 25, 19-28
66. Do Carmo, M. P. *Differentialgeometrie von Kurven und Flächen* (1993) Vieweg, Weinheim
67. Yi, Z.; Nagao, M.; Bossev, D. P. *J. Phys. Condens. Matter* (2009) 21, 155104
68. Fernandez-Puente, L.; Bivas, I. et. al. *Europhys. Lett.* (1994) 28, 3, 181-186
69. Brückner, E.; Sonntag, P.; Rehage, H. *J. Phys. Chem. B* (2000) 104, 2311-2319
70. Claessens, M. M. A. E.; van Oort, B. F. et. al. *Biophys. J.* (2004) 87, 3882-3893
71. Claessens, M. M. A. E.; Leermakers, F. A. M. et. al. *J. Phys. Chem. B* (2007) 111, 7127-7132
72. Claessens, M. M. A. E.; Leermakers, F. A. M. et. al. *Langmuir* (2007) 23, 6315-6320
73. Singer, S. J.; Nicolson, G. L. *Science* (1972) 175, 720-731
74. Pearse, B. M. F.; Smith, C. J.; Owen, D. J. *Curr. Opin. Struc. Biol.* (2000) 10, 220-228
75. Takei, K.; Kauccke, V. *Trends in Cell Biology* (2001) 11, 9, 385-391
76. Brodsky, F. M.; Chen, C.-Y. et. al. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* (2001) 17, 517-568

77. Marsh, M.; McMahon, H. T. *Science* (9-7-1999) 285, 215-220
78. www.biokurse.de/skripten/bs11-13.htm (16.06.2011)
79. Walde, P.; Cosentino, K. et. al. *ChemBioChem* (2010) 11, 848-865
80. Hauschild, S.; Lipprandt, U. et. al. *small* (2005) 1, 12, 1177-1180
81. Sugiura, S.; Kuroiwa, T. et. al. *Langmuir* (2008) 24, 4581-4588
82. Hilz, E. *Diplomarbeit* Technische Universität Dortmund (2008)
83. Clerc; S. G.; Thompson, T. E. *Biophys. J.* (1994) 67, 475-477
84. Kölchens, S.; Ramaswami, V. et. al. *Chemistry and Physics of Lipids* (1993) 65, 1-10
85. Moscho, A.; Orwar, O. et. al. *PNAS* (1996) 93, 11443-11447
86. Akashi, K. I.; Miyata, H.; Itoh, H.; Kinoshita Jr., K. *Biophys. J.* (1996) 71, 3242-3250
87. Stachowiak, J. C.; Richmond, D. L. et. al. *PNAS* (2008) 105, 12, 4697-4702
88. Lorenceau, E.; Utada, A. S.; Link, D. R. et. al. *Langmuir* (2005) 21, 9183-9186
89. Shum, H. C.; Lee, D. et. al. *Langmuir* (2008) 24, 7651-7653
90. Shum, H. C.; Kim, J.-W.; Weitz, D. A. *JACS* (2008) 130, 9543-9549
91. Yamada, A.; Le Berre, M. et. al. *ChemBioChem* (2007) 8, 2215-2218
92. Yamada, A.; Yamanaka, T. et. al. *Langmuir* (2006) 22, 9824-9828
93. Zhang, L.; Liu, J. et. al. *Chem. Lett.* (1997) 691-692
94. Zhang, L.; Hu, J.; Lu, Z. *J. Colloid Interface Sci.* (1997) 190, 76-80
95. Pautot, S.; Frisken, B. J.; Weitz, D. A. *Langmuir* (2003) 19, 2870-2879
96. Pautot, S.; Frisken, B. J.; Weitz, D. A. *PNAS* (2003) 100, 19, 10718-10721
97. Hamada, T.; Miura, Y. et. al. *J. Phys. Chem. B* (2008) 112, 47, 14678-14681
98. Matosevic, S.; Paegel, B. M. *JACS* (2011) 133, 2798-2800
99. Kawakami, K.; Nishihara, Y.; Hirano, K. *Anal. Biochem.* (1999) 269, 139-142
100. Kagawa, Y.; Racker, E. *J. Biol. Chem.* (1971) 246, 17, 5477-5487
101. Kim, Y.; Tewari, M. et. al. *J. Controlled Release* (2009) 134, 132-140
102. Massou, S.; Albigot, R.; Prats, M. *Biochem. Educ.* (2000) 28, 171-173
103. Battaglia, G., Ryan, A. J.; Tomas, S. *Langmuir* (2006) 22, 4910-4913

104. Zhang, X.-M.; Patel, A. B. et. al. *Chemistry and Physics of Lipids* (2004) 127, 113-120
105. Liu, Y.; Regen, S. L. *JACS* (1993) 115, 708-713
106. Ruiz, J.; Goni, F. M.; Alonso, A. *Biochim. Biophys. Acta* (1988) 937, 127-134
107. Stuart, M. A. C.; Boekema, E. J. *Biochim. Biophys. Acta* (2007) 1768, 2681-2689
108. de la Maza, A.; Parra, J. L. *Biochem. J.* (1994) 303, 907-914
109. Benga, G.; Holmes, R. P. *Prog. Biophys. Molec. Biol.* (1984) 43, 195-257
110. Schmid, S. L. *Annu. Rev. Biochem.* (1997) 66, 511-548
111. Allain, J.-M.; Amar, M. B. *Physica A: Statistical and Theoretical Physics* (2004) 337, 3-4, 531-545
112. Bayindir, Z. S.; Yuksel, N. *J. Pharm. Sci.* (2010) 99, 4, 2049-2060
113. Noireaux, V.; Bar-Ziv, R. et. al. *Phys. Biol.* (2005) 2, P1-P8
114. Verwey, E. J. W.; Overbeek, J. T. G. *Theory of the stability of hydrophobic colloids* (1948) Elsevier, Amsterdam
115. Boetcher, U. *Dissertation* Technische Universität Dortmund (2008)
116. Chakraborty, I.; Moulik, S. P. *J. Colloid Interface Sci.* (2005) 289, 530-541
117. Chen, C.; Kelder, E. M. et. al. *J. Mater. Chem.* (1996) 6, 5, 765-771
118. Tang, K.; Gomez, A. *J. Colloid Interface Sci.* (1996) 184, 500-511
119. Mejia, A. F.; He, P. et. al. *J. Colloid Interface Sci.* (2009) 334, 22-28
120. Ganan-Calvo, A. M.; Montanero, J. M. *Phys. Rev. E* (2009) 79, 066305-
121. Hartland, S. *Trans. Instn. Chem. Engrs.* (1967) 45, T97-T114
122. Hartland, S. *J. Phys. Chem.* (1967) 318-320
123. Danov, K. D. *Fluid Mechan. Surf. Polymer Sol.* (2004) 463, 1-38
124. Ruckenstein, E.; Manciu, M. *Langmuir* (2002) 18, 2727-2736
125. Rommel, W.; Meon, W.; Blass, E. *Sep. Sci. Technol.* (1992) 27, 2, 129-159
126. Manciu, M.; Ruckenstein, E. *Langmuir* (2004) 20, 1775-1780
127. Grimes, B. A.; Dorao, C. A. et. al. *J. Colloid Interface Sci.* (2010) 348, 479-490
128. Yeo, L. Y.; Matar, O. K. et. al. *J. Colloid Interface Sci.* (2002) 257, 93-107
129. Henschke, M.; Schlieper, L. H.; Pfennig, A. *Chem. Eng. J.* (2002) 85, 369-378

130. Frising, T.; Noik, C. et. al. *J. Disp. Sci. Technol.* (2008) 29, 827-834
131. Frising, T.; Noik, C.; Dalmazzone, C. *J. Disp. Sci. Technol.* (2006) 27, 1053-1057
132. Mezger, T. *Das Rheologie-Handbuch* (2000) Vincentz, Hannover
133. Giesekus, H. *Phänomenologische Rheologie* (1994) Springer, Berlin
134. Miller, R.; Ferri, J. K. et. al. *Colloid & Polymer Science* (2010) 288, 937-950
135. Stubenrauch, C.; Miller, R. *J. Phys. Chem. B* (2004) 108, 6412-6421
136. Svitova, T. F.; Wetherbee, M. J.; Radke, C. J. *J. Colloid Interface Sci.* (2003) 261, 170-179
137. Vrânceanu, M.; Winkler, K. et. al. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* (2007) 311, 140-153
138. Kazakov, V. N.; Fainerman, V. B. et. al. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* (2008) 62, 77-82
139. Rotenberg, Y.; Boruvka, L.; Neumann, A. W. *J. Colloid Interface Sci.* (1982) 93, 169-183
140. Voigt, A.; Thiel, O. et. al. *Colloids and Surfaces* (1991) 58, 315-326
141. Kwok, D. Y.; Vollhardt, D. et. al. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* (1994) 88, 51-58
142. Vonnegut, B. *R.S.I.* (1942) 13, 6-9
143. Viades-Trejo, J.; Gracia-Fadrique, J. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* (2007) 302, 549-552
144. Princen, H. M.; Zia, I. Y. Z.; Mason, S. G. *J. Colloid Interface Sci.* (1967) 23, 99-107
145. Hsu, J. C.; Flumerfelt, R. W. *Trans. Soc. Rheol.* (1975) 19, 4, 523-540
146. Husmann, M.; Rehage, H. et. al. *J. Colloid Interface Sci.* (2005) 282, 109-119
147. Pieper, G.; Rehage, H.; Berthès-Biesel, D. *J. Colloid Interface Sci.* (1998) 202, 293-300
148. Peltonen, L.; Hirvonen, J.; Yliruusi, J. *J. Colloid Interface Sci.* (2001) 240, 272-276
149. Krägel, J.; Siegel, S. et. al. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* (1994) 91, 169-180
150. Joly, M. *Surface and Colloid Science. Rheological Properties of Monomolecular Films.* (1972) Wiley-Interscience, New York
151. Peterson, I. R. *Rev.Sci. Instr.* (1999) 70, 8, 3418-3424
152. Schulman, J H.; Rideal, E. K. *Proceed. Royal Soc.London A* (1931) 130, 813, 259-270

153. Kinloch, C. D.; McMullen, A. I. *J. Sci. Instr.* (1959) 36, 347-349
154. *User manual Kelvin Probe SPI* (1991) Nanofilm Technologie GmbH
155. Strawbridge, K. B.; Hallett, F. R. *Macromolecules* (1994) 27, 2283, 2290
156. Pencer, J.; Hallett, F. R. *Langmuir* (2003) 19, 7488-7497
157. Zimm, B. H. *J. Chem. Phys.* (1948) 16, 12, 1099-1116
158. van Zanten, J. J. *Langmuir* (1994) 10, 4391, 4393-
159. Berry, G. C. *J. Chem. Phys.* (1966) 44, 12, 4550-4564
160. Brocca, P.; Cantù, L. et. al. *Langmuir* (2004) 20, 2141-2148
161. Pencer, J.; White, G. F.; Hallett, F. R. *Biophys. J.* (2001) 81, 2716-2728
162. Koppel, D. E. *J. Chem. Phys.* (1972) 57, 11, 4814-4820
163. Provencher, S. W. *J. Chem. Phys.* (1976) 64, 7, 2772-2777
164. Morrison, I. D.; Grabowski, E. F.; Herb, C. A. *Langmuir* (1985) 1, 496, 501-
165. *Zetasizer Nano Series User Manual* (2003) Malvern Instruments Ltd., Worcestershire
166. Beyer, H. *Handbuch der Mikroskopie* (1973) VEB Verlag Technik, Berlin
167. Robenek, H. *Mikroskopie in Forschung und Praxis* (1995) GIT Verlag, Darmstadt
168. Hill, D. B.; Macosko, J. C.; Holzwarth, G. M. *J. Microscopy* (2008) 231, 3, 433-439
169. Allen, R. D.; Allen, N. S. *J. Microscopy* (1983) 129, 1, 3-17
170. Linkenheld, C. www.mikroskopie.de (15.06.2011)
171. Inoué, S. *Video Microscopy* (1986) Plenum, New York
172. Allen, R. D.; Traviset, J. L. et. al. *Cell Motility* (1981) 1, 275-289
173. Shotton, D. M. *J. Cell Sci.* (1988) 89, 129-150
174. Maas, M. *Dissertation* Technische Universität Dortmund (2008)
175. Cicuta, P.; Donald, A. M. *Soft Matter* (2007) 3, 1449-1455
176. See, H.; Maher, A.-M. et. al. *Rheol. Acta* (1999) 38, 443-450
177. Kubatta, E. A.; Rehage, H. *Colloid & Polymer Science* (2009) 287, 1117-1122
178. Kotlarchyk, M.; Huang, J. S.; Hsin-Chen, S. *J. Phys. Chem.* (1985) 89, 4382-4386
179. Wilson, C. F.; Simpson, G. J. et. al. *Anal. Chem.* (2001) 73, 787-791

180. Sakurada, I. *Kolloid-Zeitschrift* (1938) 52, 3, 345-350
181. Binks, B. P.; Kellay, H.; Meunier, J. *Europhys. Letters* (1991) 16, 1, 53-58
182. Meunier, J.; Hendrikx, Y. et. al. *Europhys. Letters* (1994) 25, 9, 735-741
183. Christopher, G. F.; Anna, S. L. *J. Phys. D: Appl. Phys.* (2007) 40, R319-R336
184. Ganan-Calvo, A. M.; Gonzalez-Prieto, R. et. al. *Nautre Physics* (2007) 3, 737-742
185. Basaran, O. A. *AIChE Journal* (2002) 48, 9, 1842-1848
186. Serra, C. A.; Chang, Z. *Chem. Eng. Technol.* (2008) 31, 8, 1099-1115
187. Ghosh, O.; Miller, C. A. *J. Phys. Chem. B* (1987) 91, 4528-4535
188. Hua, W.; Liu, T. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* (2011) 302, 377-382
189. Yoshioka, T.; Sternberg, B.; Florence, A. T. *Int. J. Pharm.* (1994) 105, 1-6
190. Carafa, M.; Santucci, E. et. al. *Int. J. Pharm.* (1998) 160, 51-59
191. Claesson, P.; Carmona-Ribeiro, A.M.; Kurihara, K. *J. Phys. Chem.*(1980) 93, 917-922
192. Carmona-Ribeiro, A. M.; Chaimovich, H. *Biophys. J.*(1986)50, 621-628
193. Kubatta, E. A.; Rehage, H. *Tenside Surfactants Detergents* (2011) 3, 221-227
194. Limbacher, S. *Bachelorarbeit* Technische Universität Dortmund (2009)
195. Walde, P.; Wick, R. et. al. *JACS* (1994) 116, 11649-11654
196. Bergenholtz, J.; Wagner, N. J. *Langmuir* (1996) 12, 3122-3126
197. Medronho, B.; Fujii, S. et. al. *Colloid & Polymer Science* (2005) 284, 317-321
198. Bernitzki, K.; Schrader, T. *Angew. Chem.* (2009) 121, 8145-8149
199. Hwang, W. L.; Chen, M. et. al. *JACS* (2008) 130, 5878-5879
200. Richmond, D. L.; Schmid, E. M. et. al. *PNAS* (2011) 108, 23, 9431-9436
201. Porras, M.; Solans, C. et. al. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* (2004) 249, 115-118
202. Seip, C. T.; Carpenter, E. E.; O'Connor, C. J. *IEEE Transactions on Magnetics* (1998) 34, 3, 1111-1113
203. Lin, C.-L.; Chiu, W.-Y.; Don, T.-M. *J. Appl. Polymer Sci.* (2006) 100, 5, 3987-3996
204. Prichanont, S.; Leak, D. J.; Stuckey, D. C. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* (2000) 166, 177-186

Eidesstaatliche Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne unzulässige Hilfe verfasst und alle Quellen und Hilfsmittel, die benutzt wurden, kenntlich gemacht habe.

Dortmund, den 26. Oktober 2011
