
**„Kontinuierliche Herstellung und Aufarbeitung
polymerbasierter Nanopartikel
sowie Verkapselung hydrophober Substanzen“**

Dissertation

zur Erlangung des Grades

"Doktor der Naturwissenschaften"

im Promotionsfach Chemie

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

Dipl. chem.

Sibylle v. Bomhard

geboren in Trier

Mainz, Februar 2019

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von August 2013 bis Februar 2019
am Institut für Physikalische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
in Kooperation mit dem Fraunhofer-Institut für Mikrotechnik und Mikrosysteme IMM,
Mainz angefertigt.

Vorsitzender:

1. Berichterstatter:

2. Berichterstatter:

Tag der mündlichen Prüfung: 01. April 2019

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Die vorliegende Dissertation wurde in der Zeit von August 2013 bis Februar 2019 unter der Betreuung von [REDACTED] am Institut für Physikalische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz in Kooperation mit der Abteilung Nanopartikeltechnologien am Fraunhofer-Institut für Mikrotechnik und Mikrosysteme IMM, Mainz angefertigt.

Hiermit versichere ich, dass diese Arbeit selbständig von mir verfasst wurde und ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Alle Stellen, die im Wortlaut oder dem Sinn gemäß anderen Arbeiten entnommen wurden, sind durch Angabe der Quellen kenntlich gemacht.

Die Arbeit ist in gleicher oder ähnlicher Form weder veröffentlicht noch einer Prüfungsbehörde vorgelegt worden.

Mainz, den 04. Februar 2019

Sibylle v. Bomhard

*Gewidmet
meinen Eltern
und Jörg*

*„Es ist nicht genug, zu wissen, man muss auch anwenden.
Es ist nicht genug, zu wollen, man muss auch tun.“*

JOHANN WOLFGANG VON GOETHE, 1749 – 1832
(Wilhelm Meisters Wanderjahre)

KURZFASSUNG

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die kontinuierliche Herstellung und Aufarbeitung polymerer Nanopartikel mit reproduzierbaren und kontrollierten Eigenschaften untersucht, welche auf einer Kombination der Miniemulsionstechnik mit der Lösungsmittelverdampfungsmethode basiert, sowie Experimente zur Verkapselung hydrophober Substanzen in kontinuierlicher Prozessführung durchgeführt.

Die Kombination aus Miniemulsionstechnik und Lösungsmittelverdampfungsmethode stellt ein wertvolles Verfahren dar, um eine Vielzahl an funktionellen polymeren (Hybrid-)Materialien darzustellen und hydrophobe Substanzen effektiv zu verkapseln.

Bei der Entwicklung eines vollständig, kontinuierlich verlaufenden Prozesses ist es zweckmäßig, nicht nur die Synthese durchzuführen, sondern auch das *Downstream Processing* abzudecken. Daher wurde zu Beginn der Arbeit der Fallfilmmikroreaktor auf seine Wirksamkeit im Hinblick auf ein kontinuierliches Stripping von Tetrahydrofuran (THF) aus einem THF-Wasser-Gemisch untersucht. Es wurde ein Massentransfermodell zur Beschreibung des Strippingprozesses eines binären Systems entwickelt, das eine gute Übereinstimmung mit den experimentell gewonnenen Daten zeigt.

Bei dem entwickelten, kontinuierlichen Verfahren wurden ein statischer Mikromischer sowie eine Durchflussultraschallzelle erfolgreich dazu eingesetzt, eine wohldefinierte Miniemulsion herzustellen. Die disperse Phase der Emulsion besteht hierbei aus Tröpfchen eines organischen Lösungsmittels mit gelöstem Polymer und wird umgeben von einer kontinuierlichen wässrigen Phase, welche Tensid zur Stabilisierung enthält. Das Verdampfen des Lösungsmittels erfolgte kontinuierlich und höchst effektiv über den Fallfilmmikroreaktor und resultierte in der Bildung wässrig-dispergierter polymerer Nanopartikel.

Abhängig von der Polymerzusammensetzung, experimentellen Parametern (z.B. Flussrate, Mischverhältnis, usw.) sowie der Anwesenheit anorganischer Substanzen konnten mit dem entwickelten Verfahren erfolgreich und reproduzierbar Partikel mit unterschiedlichen Eigenschaften und Morphologien hergestellt werden:

- Durch Anpassung der Reaktionsparameter konnten gezielt Polystyrol-Partikel mit Durchmessern zwischen 50 nm und 250 nm dargestellt werden.
- Das Verfahren ermöglichte eine höhere Verkapselungseffizienz superparamagnetischer Eisenoxid-Partikel in Polystyrol im Vergleich zur Literatur.
- Es wurden Janus-Partikel aus Polystyrol und Poly-L-Lactid kontinuierlich gewonnen.
- Bei der kontinuierlichen Verkapselung von Nilrot in Polystyrol bzw. Poly(Lactid-co-Glycolid) (PLGA) kam es im Gegensatz zur Batchmethode zu einer Löschung der Fluoreszenz. Wird der Farbstoff jedoch aus den kontinuierlich hergestellten Partikeln wieder freigesetzt, tritt das Fluoreszenzsignal ohne Verluste in der Intensität wieder auf, und bietet so das Potential, als molekulare Sonde verwendet zu werden.
- Abschließend konnte eine erhöhte Aufnahme von PLGA Nanopartikeln mit verkapseltem Magnetit in einem angelegten Magnetfeld in humane Glioblastomzellen im Vergleich zu Versuchen ohne Magnetfeld und zu Versuchen mit Partikeln ohne verkapselte Eisenoxide mit und ohne Magnetfeld gezeigt werden.

ABSTRACT

In the framework of this PhD thesis the continuous formation and the corresponding downstream processing of polymeric nanoparticles with well-defined and reproducible properties and morphologies as well as the encapsulation of hydrophobic compounds were investigated. For this purpose, a combination of the miniemulsion technique with highly efficient solvent evaporation in flow was established as well as a laboratory scale unit developed and evaluated. The method presents a versatile process for the production of a wide range of functional polymeric hybrid materials.

For the design of sustainable continuous processes it is important to not only consider the generation of the nanoparticles but also the purification and downstream processing. Therefore, a falling film micro reactor was investigated regarding its ability to continuously evaporate tetrahydrofuran (THF) out of a THF-water mixture. A mass transfer model for the separation process was developed which showed good agreement between the calculations and the experimental data.

A well-defined miniemulsion was generated by a static micromixer followed by a flow-through ultrasonic cell. The dispersed droplets consist of preformed polymers dissolved in an organic solvent within an aqueous surfactant solution as a continuous phase. A continuous and highly efficient solvent evaporation was performed by using the falling film micro reactor, resulting in the formation of dispersed polymer-based nanoparticles.

Depending on the polymer composition, experimental parameters (e.g. flow rate, mixing ratio, surfactant concentration) and the presence of inorganic substances, various kinds of polymeric particles with different properties and morphologies were successfully prepared:

- By adjusting the reaction parameters, polystyrene particles of diameters between 50 nm and 250 nm were prepared.
- The developed process allowed for a higher amount of superparamagnetic iron oxide particles to be encapsulated in poly(styrene) compared to batch processes reported in literature.
- Poly(styrene) / poly(L-lactide) Janus particles were continuously generated.
- In contrast to the batch method, the continuous encapsulation of Nile red in poly(styrene) or poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) inhibited the fluorescence of the dye. After the release of the continuous encapsulated dye, the fluorescence intensity was fully recovered. This carries the potential for the use as a molecular sensor.
- Finally, an increased uptake of PLGA nanoparticles with encapsulated magnetite in humane glioblastoma cells could be observed in an external magnetic field compared to experiments without a magnetic field and experiments with particles without magnetite with and without an external magnetic field.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Allgemeine Einführung	1
1.2	Motivation und Zielsetzung	5
1.3	Inhaltlicher Aufbau der Dissertationsschrift	7
2	Theorie und Grundlagen	9
2.1	Nanopartikel	9
2.1.1	Eigenschaften von Nanopartikeln	10
2.1.2	Synthese von Nanopartikeln	12
2.1.3	Anwendungsgebiete von Nanopartikeln	13
2.2	Heterophasensysteme / kolloidale Systeme	15
2.2.1	Stabilität kolloidaler Dispersionen	17
2.2.2	Grenzflächen- und Oberflächenspannung	26
2.2.3	Emulsionen	30
2.2.4	Alterungsprozesse	40
2.2.5	Dispergiervverfahren	44
2.3	Grundlagen der Mikroverfahrenstechnik	51
2.3.1	Mikroreaktoren	52
2.3.2	Dispergieren durch Einsatz von Mikromischern	55
2.4	Superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel	60
2.4.1	Kristallstrukturen von Magnetit und Maghemit und Hämatit	60
2.4.2	Synthese	62
2.4.3	Grundlagen des Magnetismus	64
2.4.4	Superparamagnetismus	66
2.4.5	Ferrofluid	71
2.4.6	Magnetische Nanopartikel in der Medizin	71
3	Charakterisierungsmethoden	73
3.1	Lichtstreuung	74
3.1.1	Statische Lichtstreuung	75
3.1.2	Dynamische Lichtstreuung	80
3.2	Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)	85
3.2.1	Cryo-Transmissionselektronenmikroskopie (Cryo-TEM) ^[116]	87

3.3	Dichtemessung mit Biegeschwinger.....	88
3.3.1	Messprinzip des Biegeschwingers.....	89
3.3.2	Aufbau der Messzelle und Temperaturregelung	91
3.4	UV/VIS-Spektroskopie	94
3.5	Fluoreszenzspektroskopie.....	95
3.6	Durchflusszytometrie (FACS)	98
3.7	Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM).....	100
4	Ergebnisse und Diskussion.....	103
4.1	Fallfilmmikroreaktor zur kontinuierlichen Verdampfung eines Lösungsmittels aus einem binären Gemisch	103
4.1.1	Überblick zur Phasenkontaktierung bei Gas-Flüssig-Mikroreaktoren	104
4.1.2	Technische Daten und Funktionsprinzip von Fallfilmmikroreaktoren	106
4.1.3	Darstellung der wesentlichen Versuchsparameter.....	108
4.1.4	Simulation des Massentransfers	111
4.1.5	Diskussion der experimentellen Daten	116
4.1.6	Vergleich der experimentellen Daten mit der Simulation	121
4.1.7	Schlussfolgerung.....	124
4.2	Semikontinuierliche Isolierung von Pluronic® L121-Polymersomen unter Verwendung des Fallfilmmikroreaktors	125
4.2.1	Herstellungsmethoden und Anwendungsbeispiele von Polymersomen	125
4.2.2	Darstellung der wesentlichen Versuchsparameter.....	131
4.2.3	Diskussion der Ergebnisse	133
4.2.4	Schlussfolgerung.....	138
4.2.5	Ausblick	138
4.3	Batch und (semi-) kontinuierliche Herstellung von PLGA-Nanopartikeln durch Nanopräzipitation	141
4.3.1	Nanopräzipitation als Methode zur Herstellung bioabbaubarer Nanopartikel.....	141
4.3.2	Darstellung der wesentlichen Versuchsparameter.....	144
4.3.3	Diskussion der Ergebnisse	145
4.3.4	Schlussfolgerung.....	148
4.4	Kontinuierliche Prozessführung zur Herstellung polymerbasierter Nanopartikeln mittels Miniemulsionstechnik durch Kombination von Mikromischern, Ultraschalldurchflusszelle und Fallfilmmikroreaktor	150
4.4.1	Darstellung polymerbasierter Nanopartikel mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik.....	151
4.4.2	Aufbau einer Versuchsanlage im Labormaßstab	156

4.4.3	Energetischer und ökonomischer Vergleich des kontinuierlichen Verfahrens mit der Batch-Methode	166
4.4.4	Darstellung der wesentlichen Versuchsparameter zur Evaluierung der Versuchsanlage 170	
4.4.5	Diskussion der Ergebnisse	172
4.4.6	Schlussfolgerung	180
4.5	Kontinuierliche Herstellung von Hybridpartikeln	182
4.5.1	Janus-Partikel aus Polystyrol und Poly-L-Lactid	182
4.5.2	Hybridpartikel aus Polystyrol und Magnetit	190
4.5.3	Verkapselung von Nilrot in Polystyrol- bzw. Poly(Lactid-co-Glycolid)	201
4.6	Partikel-Aufnahme magnetischer PLGA-Nanopartikeln durch die humane Glioblastomzelllinie U-251 MG	222
4.6.1	Aufbau und Funktion des Blut-Hirn-Schranke (BHS)	222
4.6.2	Darstellung der wesentlichen Versuchsparameter	230
4.6.3	Diskussion der Ergebnisse	233
4.6.4	Schlussfolgerung	243
5	Zusammenfassung und Ausblick	247
6	Experimenteller Teil	253
6.1	Verwendete Chemikalien und Lösungsmittel	253
6.2	Verwendete Geräte	254
6.2.1	Partikelherstellung	254
6.2.2	Lichtstreuung	255
6.2.3	Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)	255
6.2.4	Dichtemessung	256
6.2.5	UV/VIS-Spektroskopie	256
6.3	Versuchsdurchführung	257
6.3.1	Verdampfen von THF aus einem THF-Wasser-Gemisch durch Stickstoff Stripping mit dem Fallfilmmikroreaktor STACK-1x-FFMR-LAB-V2	257
6.3.2	Kontinuierliche Darstellung von mit Eisenoxid-Nanopartikeln beladenen Polymersomen aus Pluronic® L121 mit separatem kontinuierlichen Abdampfen von THF über den Fallfilmmikroreaktor	259
6.3.3	Herstellung im Batch, semikontinuierlich und kontinuierlich von PLGA Nanopartikeln durch Nanopräzipitation	260
6.3.4	Darstellung von Polystyrol-Nanopartikel durch die Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik und Evaluierung des entwickelten Versuchsaufbaus durch Variation unterschiedlicher Parameter	262
6.3.5	Kontinuierliche Herstellung von Hybridpartikeln	266
6.3.6	Partikel-Aufnahme in die humane Glioblastom-Zelllinie U-251 MG	273

7	Anhang.....	281
7.1	Abkürzungsverzeichnis.....	281
7.2	Symbolverzeichnis.....	285
7.2.1	Theorie und Grundlagen (Kapitel 2)	285
7.2.2	Charakterisierungsmethoden (Kapitel 3).....	289
7.2.3	Ergebnisse und Diskussion (Kapitel 4).....	292
7.3	Abbildungsverzeichnis.....	294
7.4	Tabellenverzeichnis	304
8	Eigene Veröffentlichungen	307
8.1	Publikationen.....	307
8.2	Vorträge	307
8.3	Filmbeitrag	307
8.4	Postervorträge	308
9	Quellenverzeichnis	309
	Danksagung.....	341
	Lebenslauf.....	343

1 EINLEITUNG

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Entwicklung und Etablierung eines kontinuierlichen Prozesses zur Herstellung polymerbasierter Nanopartikel mit kontrollierten Eigenschaften durch Nutzung der Miniemulsionstechnik in Kombination mit einer technisch relevanten Lösungsmittelverdampfungsmethode.

1.1 Allgemeine Einführung

Die Nanotechnologie ist eine der Schlüsseltechnologien des 21. Jahrhunderts und hat sich vor allem in den letzten 30 Jahren rasch weiterentwickelt. Der Nobelpreisträger Richard P. Feynman gilt als einer der Begründer der Nanotechnologie. Bereits vor über einem halben Jahrhundert sagte er in seiner berühmten Rede „*There's Plenty of Room at the Bottom*“ (auf dt. „Es gibt noch viel Raum nach unten“) im Jahr 1959 auf der Jahresversammlung der Amerikanischen Physikalischen Gesellschaft den Trend zur Miniaturisierung voraus durch die „...Manipulation und Steuerung von Dingen im winzigen Maßstab...“.^[1]

Die Nanotechnologie ist ein äußerst interdisziplinäres Forschungsgebiet, das viele Themenfelder aus der Chemie, Biologie und Physik vereint. Die daraus resultierenden Ergebnisse, Erkenntnisse und Anwendungen beeinflussen viele Bereiche wie Medizin und Pharmazie, die Bau- und Automobilbranche, Lebensmittel- und Kosmetikindustrie, aber auch Informations- und Kommunikationstechnologie.

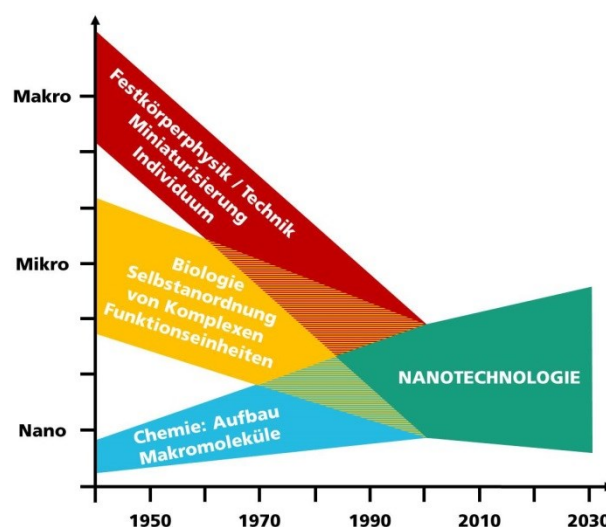


Abbildung 1: Die Nanotechnologie ist ein äußerst interdisziplinäres Forschungsgebiet basierend auf Chemie, Biologie und Physik (modifiziert nach ^[2]).

Damit zeichnet sich die Nanotechnologie ganz besonders durch ihr breites Anwendungsspektrum aus und führt so zur Neugestaltung und Verbesserung von Prozessabläufen in nahezu allen technischen und wissenschaftlichen Gebieten.^[3]

Nano kommt aus dem Griechischen und bedeutet übersetzt „Zwerg“. Der Begriff wird im internationalen Einheitssystem für den Faktor 10^{-9} verwendet, somit entspricht 1 nm also $1 \cdot 10^{-9}$ m als SI-Einheit (frz. *système international d'unités*, engl. *international system of units*, dt. internationales Einheitssystem).

Als Nanopartikel werden im Allgemeinen Materialien mit einer Größe von 1 nm bis zu einigen hundert Nanometern bezeichnet. Damit rangieren sie in der Größenordnung von Biomolekülen und verhalten sich von ihrer Größe im Vergleich zu einem Fußball so, wie dieser sich zur Erde verhält (siehe Abbildung 2).

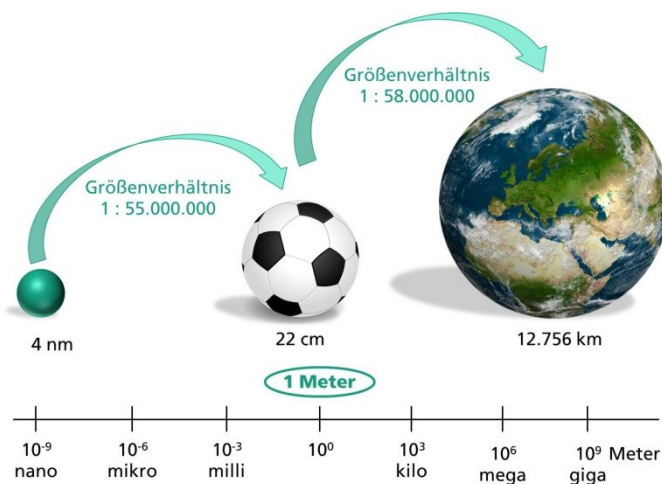


Abbildung 2: Graphischer Größenvergleich eines 4 nm großen Nanopartikels, welcher sich zu einem Fußball so verhält wie dieser zur Erde.

Die Grundsätze der klassischen Physik können nur noch bedingt auf Nanopartikel angewandt werden, vielmehr gelten in dieser Größenordnung die Gesetze der Quantenphysik. Im Vergleich zu Masse und Volumen derart kleiner Teilchen wird die Oberfläche extrem groß und hat so wesentlichen Einfluss auf die Eigenschaften des Objekts.^[4]

Durch eine Miniaturisierung eines Materials in den Nanogrößenbereich kann es alleine durch die Dimensionsverkleinerung zu Änderungen wesentlicher Stoffeigenschaften wie Löslichkeit, Transparenz, Farbe, Schmelzpunkt, Leitfähigkeit oder katalytischer Potenz kommen.^[4] Die Variation der Teilchengröße und weiterer Parameter (Zusammensetzung, Ladung, Form,...) eröffnet somit neue Dimensionen zur Beeinflussung von Materialeigenschaften.^[5] Dies macht Nanopartikel für ein immens weites Spektrum unterschiedlichster Anwendungen so interessant.

Dadurch kommt der Nanotechnologie eine hohe technologische und wirtschaftliche Relevanz zu.

So nutzten bereits Menschen im Mittelalter unbewusst und rein empirisch diese besonderen Eigenschaften von Nanopartikeln, indem sie Gold-Nanopartikel in das Glas von Kirchenfenster einarbeiteten, da diese Partikel in Abhängigkeit von ihrer Größe die Farbe des Glases unterschiedlich beeinflussen.

Nanopartikel und Kolloide werden zunehmend in Produkten des täglichen Lebens zur Verbesserung der Eigenschaften eingesetzt. Dazu gehören neben Farben, Lacken und Dispersionen, die Lebensmittel- und Kosmetikindustrie, die Automobilbranche, Abwasserbehandlung, Solarzellen, Medizin und Pharmazie und viele mehr.

Die Bedeutung von Nanopartikeln nimmt auch weiterhin zu, da die Fähigkeiten der Wissenschaft zur gezielten Darstellung und Manipulation von Eigenschaften ständig voranschreiten. Damit wächst auch das Interesse und vor allem die Notwendigkeit für Verbesserungen und Innovationen der Herstellungsprozesse für diese Materialien.

Laut der europäischen Patentorganisation und nach Daten der PR NEWSWIRE betrug im Jahr 2014 der Weltmarkt für Nanotechnologie-Produkte bereits 23 Mrd. Euro. Bis 2019 soll er auf 59 Mrd. Euro anwachsen und weist damit eine jährliche Wachstumsrate von 19,8 % auf.^[6]

Ungefähr 80 % der großtechnisch gefertigten Produkte werden als Partikel formuliert, oder diese tauchen an Stellen im Herstellungsprozess auf.^[7] Dadurch bringt die industrielle Nutzung ein immenses wirtschaftliches Potenzial für Innovationen auf dem Sektor der Partikeltechnologien mit sich.^[7] Jedoch fehlt es in vielen Bereichen derzeit noch immer an (billigen) Methoden zur Herstellung nicht aggregierter Nanopartikel.^[7]

Je nach Anwendung werden unterschiedlichste Anforderungen an die Partikel gestellt. In der Werkstoff- und Energietechnik besitzen nanoskalige Materialien mit einer hohen Reinheit und passgenau eingestellten Eigenschaften ein hohes Anwendungspotential.^[8] Höchste Ansprüche gelten auch für medizinische Anwendungen in Bezug auf Qualität, aber auch im Hinblick auf die Reproduzierbarkeit der Darstellung insbesondere für aggregatfreie Präparate.

Durch geeignete Modifikation von Größe und Oberflächeneigenschaften können Nanopartikel gezielt so maßgeschneidert werden, dass sie in bestimmte Zellen eindringen oder aber an diesen andocken. Je nach Spezifikation des Partikels kann dieser beispielsweise über Lumineszenz, Lichtstreuung oder Magnetismus detektiert werden. Dadurch wird eine Detektion mit hoher Ortsauflösung möglich.^[9]

Darüber hinaus ist auf diese Weise ein gezielter Transport und – bei entsprechender Modifikation – sogar eine gezielte Freisetzung von Wirkstoffen in erkranktem Gewebe möglich.^[10]

Der industrielle Einsatz nanoskaliger Materialien mit hohen Qualitätsanforderungen (z.B. Größe und Größenverteilung, Funktionalisierung, etc.) wird jedoch dadurch verzögert, dass diese oft nur in Kleinstmengen in ausreichender Qualität verfügbar sind und daher nicht ausreichend getestet werden können.^[5]

Darüber hinaus stellt die Reproduzierbarkeit eines der wichtigsten Ziele bei der Herstellung von Nanopartikeln dar, um nicht nur eine ausreichende Verfügbarkeit sicher zu stellen, sondern auch um die geforderte Qualität in Bezug auf Größe, Größenverteilung etc. verlässlich zu erreichen.

Die Problematik der Reproduzierbarkeit ist bei Batchsynthesen, d.h. der Herstellung in einzelnen Chargen, immanent. Diese Herausforderung kann durch Nutzung der Nano-/ Mikrotechnologie und kontinuierlichen Prozessen adäquat adressiert werden.

Einer der großen Vorteile der Mikrofluidik / Mikroreaktionstechnik ist die hohe Kontrolle über die Reaktionsparameter und damit auch die Möglichkeit zur Manipulation von flüssig-flüssig-Grenzflächen. Kleinste Mengen an Fluiden und Gasen können im Bereich von Picolitern auf unterschiedlichste Weise getrennt und wieder zusammengeführt werden, mit verschiedensten Geometrien an Mikrokanälen kontrolliert und hocheffizient vermischt werden, in kürzester Zeit erhitzt oder abgekühlt werden; das Repertoire an Möglichkeiten ist enorm.^[11,12]

Die einzigartigen Eigenschaften beruhen vorwiegend auf dem effizienten, verbesserten Masse- und Wärmeübertrag durch das große Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis in Systemen mit derart kleinen charakteristischen Dimensionen, die sich im Bereich von wenigen Mikrometern bis hin zu einigen hundert bewegen.^[13]

Durch diese präzise und vorhersagbare / berechenbare Kontrolle über Volumenströme wird eine hochdefinierte Prozessumgebung für (makro-) molekulare Reaktionen geschaffen, welche denen in konventionellen Laborglasgeräten und sogar industriellen Reaktoren deutlich überlegen ist.^[14]

1.2 Motivation und Zielsetzung

Nanopartikel und –strukturen besitzen aufgrund ihrer einzigartigen Eigenschaften ein enorm großes Anwendungsspektrum und sind auch heute schon in vielen Bereichen des täglichen Lebens vertreten; genannt seien hier beispielhaft Lebensmittel und Kosmetika, Textilien, Pigmente, Farben, Lacke und Dispersionen.

Insbesondere Nanopartikel mit definierten Eigenschaften und in reproduzierbarer Qualität sind von großem Interesse und Nutzen für Wirtschaft und Gesellschaft, allerdings sind wesentliche Voraussetzungen zur breiten kommerziellen Anwendung Gegenstand aktueller Forschung, um wissenschaftliche und technologische Grundlagen des Verständnisses zu vervollständigen.

Die Größe, chemische Zusammensetzung, Kristallinität, Form und viele weitere Eigenschaften von Nanopartikeln lassen sich über die Prozessführung, Temperatur, chemische Zusammensetzung, Konzentration, Oberflächenmodifikation und den pH-Wert steuern.^[15] Durch die hohe Empfindlichkeit der Prozessführung gegenüber kleinsten Änderungen im Multiparameterraum gestaltet sich die Prozessentwicklung äußerst aufwendig und erfordert zudem höchste Anforderungen an die Konstanz aller Prozessparameter.

Die Mikroverfahrenstechnik bietet die modernste und Ressourcen-schonendste technische Grundlage zur Entwicklung und industriellen Nutzung kontinuierlicher Prozesse. Aufgrund ihrer kleinen, aber hoch definierten Strukturen ist einerseits eine sehr gute Kontrolle über die Prozessparameter möglich und andererseits ein extrem effizienter Wärme- und Stofftransport gegeben. Darüber hinaus wohnt der Mikroverfahrenstechnik immanent die Möglichkeit inne, eine Durchsatzerhöhung durch ein *Scale-up* oder ein *Numbering-up* durchzuführen.

Aufgrund der Möglichkeit zur präzisen Kontrolle der Reaktionsparameter und deren dynamische Änderungen drängt sich die Mikroverfahrenstechnik somit zur Synthese von Nanopartikeln, aber auch zur Prozessentwicklung selbst, geradezu auf.

Ziel der vorliegenden Doktorarbeit soll daher die Entwicklung eines kontinuierlichen Prozesses zur reproduzierbaren Darstellung polymerbasierter Nanopartikel mit kontrollierten Eigenschaften sein.

Das Herstellungsverfahren soll dabei auf einer Kombination der Miniemulsionstechnik mit der Lösungsmittelverdampfungsmethode, der sogenannten „*Emulsion solvent evaporation technique*“, basieren.

Diese Technik ist als Batchverfahren im Labor bereits gut etabliert und wird in der Forschung dazu genutzt, eine breite Palette polymerbasierter funktioneller Verbundwerkstoffe im Submikrometerbereich herzustellen und erfolgreich hydrophobe Materialien effektiv zu verkapseln.

Um tatsächlich einen komplett kontinuierlich ablaufenden Prozess zu realisieren, ist es notwendig, eine zu der ausgewählten Herstellungsmethode kompatible Methode zur Aufarbeitung des Produktes zu identifizieren, zu evaluieren und zu integrieren.

Auch die Herstellungstechnik für die Nanopartikel selbst soll mit dem hier entwickelten Verfahren und dem zugehörigen Laboraufbau anhand unterschiedlicher verwendeter Polymere und zu verkapselnder Substanzen getestet werden.

Des Weiteren soll untersucht werden, inwiefern unterschiedliche Parameter wie Polymerart, Molmasse und Konzentration des Polymers, Mischverhältnisse, etc. einen Einfluss auf die hergestellten Partikel haben.

Von Interesse ist dabei auch zu untersuchen, ob es zu Unterschieden bei einer kontinuierlichen Herstellung im Vergleich zur analogen Batchvariante kommt und wenn ja, worin diese Unterschiede genau bestehen und woraus sie resultieren.

Polymere Nanopartikel stellen äußerst erfolgsversprechende Trägersysteme für den Wirkstofftransport mit anschließender Wirkstofffreisetzung für biomedizinische Anwendungen dar.

Das oberste Anliegen der modernen Forschung bei Freisetzung von Wirkstoffen ist das Maximieren des therapeutischen Nutzens bei gleichzeitiger Minimierung der limitierenden, unerwünschten Nebenwirkungen. In den letzten Jahren wächst daher das Interesse an sogenannten „theranostischen“ Systemen, welche therapeutische und diagnostische Eigenschaften vereinen. Sie bieten ein enormes Potential für eine nicht-invasive Echtzeitüberwachung der Therapie.

Daher sollen im Rahmen dieser Arbeit auch biomedizinisch relevante Kolloide präpariert werden, die als Modellpartikel ihre Eignung zur Überwindung der Blut-Hirn-Schranke belegen sollen. Zur Durchführung dieser Versuche werden humane Glioblastomzellen der Zelllinie U-251 MG vorgesehen, da diese ein etabliertes Modellsystem für die Blut-Hirn-Schranke darstellen.

1.3 Inhaltlicher Aufbau der Dissertationsschrift

Die vorliegende Dissertation ist so gegliedert, dass nach dieser allgemeinen Einführung in die Thematik der Nanotechnologie, Mikroverfahrenstechnik und polymerer Nanopartikel sowie einer Einordnung und Motivation der vorliegenden Doktorarbeit (Kapitel 1) die zum Verständnis notwendigen Theorien und Grundlagen beschrieben werden (Kapitel 2). Im nächsten Kapitel werden die verwendeten Charakterisierungsmethoden vorgestellt (Kapitel 3).

Das Kapitel „Ergebnisse und Diskussion“ (Kapitel 4) setzt sich aus sechs aufeinander aufbauenden thematischen Unterkapiteln zusammen:

- In Kapitel 4.1 wird die Leistungsfähigkeit des Fallfilmmikroreaktors (STACK-1x-FFMR-LAB-V2) zur kontinuierlichen Verdampfung eines Lösungsmittels aus einem binären Gemisch anhand experimenteller Versuche untersucht und mit einem entwickelten Massentransfermodell validiert.
- Im nächsten Kapitel (Kapitel 4.2) wird Eignung des Fallfilmmikroreaktors zur semikontinuierlichen Isolierung von Pluronic® L121-Polymersomen gezeigt.
- Anschließend wird in Kapitel 4.3 die Einsatzmöglichkeit des Fallfilmmikroreaktors bei der Herstellung von Poly(Lactid-co-Glycolid)-Partikel durch Nanopräzipitationsmethode im Batch, semikontinuierlich und kontinuierlich getestet und mit Ergebnissen im Batch verglichen.
- Kapitel 4.4 beschreibt die Entwicklung der kontinuierlichen Prozessführung und des daraus resultierenden Laboraufbaus zur Herstellung polymerbasierter Nanopartikel mittels Miniemulsionstechnik durch Kombination von Mikromischern, einer Ultraschalldurchflusszelle und des Fallfilmmikroreaktors.
- Das entwickelte kontinuierliche Verfahren wird in Kapitel 4.5 durch die Herstellung von Janus-Partikeln aus Polystyrol und Poly-L-Lactid, Hybridpartikeln aus Polystyrol und Magnetit, sowie der Verkapselung von Nilrot in Polystyrol- bzw. Poly(Lactid-co-Glycolid) evaluiert und Unterschiede zur Batchmethodik beschrieben.
- Abschließend wird in Kapitel 4.6 die Partikelaufnahme magnetischer PLGA-Nanopartikeln durch die humane Glioblastomzelllinie U-251 MG mit und ohne Magnetfeld untersucht.

In jedem dieser Unterkapitel erfolgt zunächst die Beschreibung des Stands der Technik des jeweiligen Forschungsgebiets für eine bessere Einordnung der durchgeführten Experimente in den wissenschaftlichen Kontext. Darauf folgt eine Darstellung der für das Verständnis wesentlichen Versuchsparameter. Im Anschluss werden die gewonnenen Ergebnisse vorgestellt und diskutiert. Am Ende werden die wesentlichen Erkenntnisse zusammengefasst.

Die abschließende Zusammenfassung der wesentlichen Ergebnisse und Erkenntnisse der hier vorliegenden Doktorarbeit werden in Kapitel 5 präsentiert und es wird noch ein kurzer Ausblick gegeben.

Eine ausführliche Beschreibung der Experimente findet sich im experimentellen Teil (Kapitel 6).

Kapitel 7 enthält das Abkürzungsverzeichnis sowie das Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.

Eigene Veröffentlichungen in Form von Publikationen, Vorträgen, Postern und eines Videobeitrags sind in Kapitel 8 aufgelistet.

Das Quellenverzeichnis ist unter Kapitel 9 zu finden.

2 THEORIE UND GRUNDLAGEN

In diesem Kapitel wird auf die für diese Arbeit wesentlichen theoretischen Grundlagen eingegangen. Im Einzelnen werden folgende Themen näher erörtert: Nanopartikel, Heterophasensysteme / kolloidale Systeme, Grundlagen der Mikroverfahrenstechnik und superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel.

2.1 Nanopartikel

Das Wort Nano leitet sich von dem griechischen Wort „Návoς“ (= nános) für „Zwerg“ oder „zwergenhaft“ ab.

In den letzten Jahren und Jahrzehnten gibt es ein wachsendes Interesse an dem Gebiet der Nanotechnologie, da Nanopartikel und –materialien großartige Chancen und Möglichkeiten für die unterschiedlichsten Anwendungsbereiche bieten.

Der Begriff Nanopartikel wird für kolloidale Teilchen – egal welcher Form – mit einem Durchmesser von 1 nm - 100 nm verwendet (IUPAC-Empfehlung für Gel-Nanopartikel) und beschreibt lediglich die Größendimension der Partikel.

Treten typische Phänomene auf (Transparenz oder Trübung, Ultrafiltration, stabile Dispersionen,...) kann die obere Grenze zur Nutzung der Vorsilbe „nano“ auf Dimensionen kleiner 500 nm erweitert werden.^[16] Röhrchen und Fasern, bei denen zwei Dimensionen kleiner als 100 nm sind, werden ebenfalls als „nano“ bezeichnet.^[17] In der Literatur erfolgt eine weitere Unterteilung meist anhand ihrer Herkunft.

Entsprechend der technischen Definition des von der europäischen Kommission unabhängigen wissenschaftlichen Ausschusses "Neu auftretende und neu identifizierte Gesundheitsrisiken" (engl. *Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks*, SCENIHR) wird ein Material als Nanomaterial bezeichnet, wenn mehr als 0,15 % des Zahlenmittels kleiner 100 nm sind.^[18]

Durch die spezifische Darstellung nanoskaliger Materialien in Bezug auf ihr Material, ihre Struktur, Größe sowie Größenverteilung und Oberflächeneigenschaften können neuartige optische, chemische und physikalische Eigenschaften erhalten werden, die sich deutlich von den korrespondierenden makroskaligen Materialien („Bulkware“) unterscheiden.

Mit Größen von bis zu einigen hundert Nanometern sind Nanopartikel wesentlich kleiner als Zellen, die im Durchschnitt $1\ \mu\text{m}$ – $30\ \mu\text{m}$ groß sind, aber deutlich größer als einzelne Moleküle, Peptide oder sogar ganze Proteine.^[19]

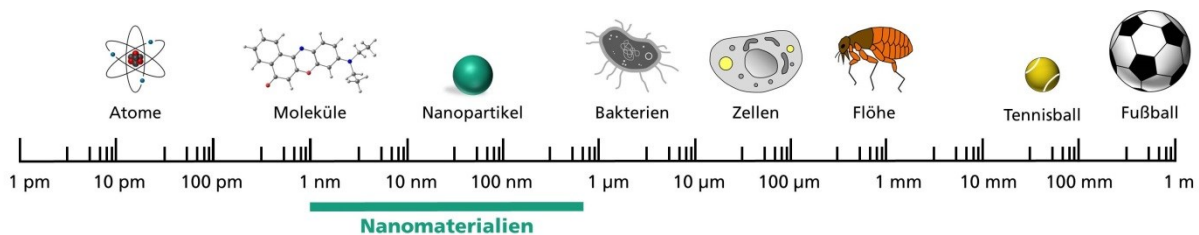


Abbildung 3: Der Begriff Nanomaterialien bezieht sich auf den Größenbereich zwischen 1 nm und wenigen hundert Nanometer und liegt damit zwischen der Größe eines einzelnen Atom und der einer Zelle.

Nanopartikel werden bereits aufgrund ihres enorm großen Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnisses als Katalysatoren in der chemischen Industrie genutzt. Sie sind aber auch in Alltagsprodukten wie Kosmetika, zum Beispiel als Sonnenschutzmittel mit verbesserten Eigenschaften, zu finden. Darüber hinaus werden Nanopartikel bereits standardmäßig in Membranen und Filtern für die Abwasserbehandlung verarbeitet, für antireflektierende Beschichtungen von Solarzellen verwendet und für Farben und Lacke genutzt.^[20,21]

Zusätzlich besitzen Nanopartikel großes Potential für biomedizinische Anwendungen wie beispielsweise zur Zellseparation, für Kernspintomographie oder zur magnetischen Hyperthermiebehandlung sowie den gezielten Wirkstofftransport in Zellen.^[22]

Aufgrund ihrer geringen Größe sind Nanopartikel in der Lage biologische Barrieren wie z.B. Zellwände zu überwinden. Daher eignen sie sich hervorragend für den Transport von Wirkstoffen und biologisch aktiven Substanzen.^[23]

2.1.1 Eigenschaften von Nanopartikeln

Im Jahr 1861 beobachtete Thomas Graham, dass es Stoffe gibt, die in Lösung unsichtbar sind, aber dennoch bei der Dialyse nicht durch Membranen diffundieren. Um diese Stoffe zu beschreiben nutzte er den Begriff „Kolloid“, welchen er von dem griechischen Wort „κόλλα“ (= „kolla“) für „Leim“ abgeleitet hat.^[24–26]

Nach der IUPAC-Definition besitzen kolloidale Systemen im dispergierten Zustand mindestens in einer Dimension eine Größe zwischen 1 nm und $1\ \mu\text{m}$.^[24–26]

Das Verhalten nanoskaliger Materialien kann stark von dem entsprechenden makroskaligen Material differieren. Aufgrund ihrer geringen Größe resultiert daraus für Nanopartikel ein enorm großes Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnis (siehe Abbildung 4), wodurch auch ihre chemische Reaktivität erhöht wird. Auch gewinnen Quanteneffekte enorm an Einfluss auf die optischen, mechanischen, elektrischen, und magnetischen Eigenschaften.^[27]

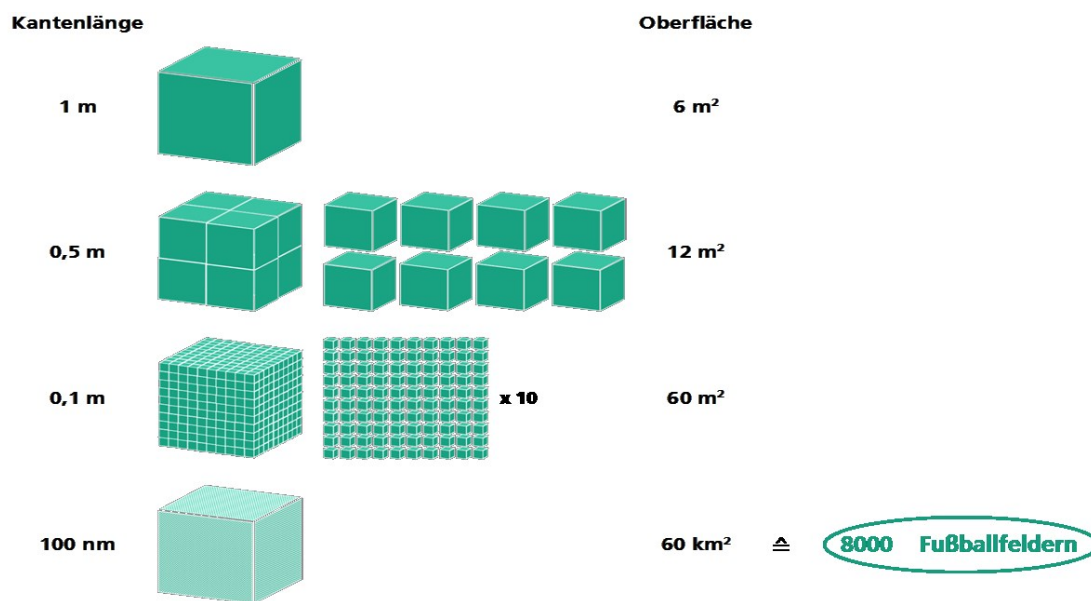


Abbildung 4: Schematische Darstellung wie sich bei gleichbleibendem Gesamtvolumen die Oberfläche vergrößert, wenn eine Zerlegung mit immer kleiner werdender Kantenlänge stattfindet.

Bei Nanopartikeln spielen die Oberflächenladung und -aktivität aufgrund des sehr großen Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnisses eine wesentliche Rolle für die Eigenschaften der Teilchen. Daher nimmt ebenfalls der Einfluss der Oberflächenkräfte (van der Waals-Kräfte) zu. Weil Nanopartikel so klein sind, werden auch thermodynamische Effekte wie zum Beispiel die Brown'sche Bewegung immer entscheidender für das Verhalten während der Einfluss von Massenkräften abnimmt. Als Folge der Verkleinerung der Dimension gewinnen Oberflächen- und Quanteneffekte an Bedeutung und es resultieren die Besonderheiten nanoskaliger Materialien, welche in den neuartigen optischen, elektronischen, katalytischen und magnetischen Eigenschaften liegen.^[28]

Das Auftreten neuartiger Eigenschaften als Größeneffekt von Nanopartikeln hängt oftmals neben der Größe auch von der Größenverteilung der Teilchen ab.^[29]

Bei Quantum Dots (kolloidalen Halbleitern) treten eine Reihe interessanter Eigenschaften auf, die sich allerdings nur beobachten lassen, wenn die untersuchten Proben monodispers sind.^[30]

Neuartige Katalysatoren werden aus ultrafeinen Edelmetallpartikeln hergestellt. Die Aktivität eines Katalysators kann dabei – umso kleiner und monodisperser die Metallpartikel im Katalysator sind – bis hin zu einem Vielfachen gesteigert werden. Auch die Selektivität derartiger Katalysatoren kann dadurch erhöht werden.^[31–33]

Nanopartikel sind außerdem für den biomedizinischen Einsatz in den unterschiedlichsten Gebieten (Zellseparation, Bildgebung, Wirkstofftransport,...) von großem Interesse, da ihre Größe in einem Bereich liegt, der dem von Proteinen (5 nm - 50 nm) und Viren (20 nm - 450 nm) entspricht. Neben der Größe sind die Oberflächeneigenschaften ein entscheidender Faktor für eine Zellaufnahme.

Um eine ausreichende Wasserlöslichkeit, Biokompatibilität oder auch ein ausreichendes Freisetzungsverhalten zu erreichen, kann es notwendig werden, Materialien definiert in polymeren Nanopartikeln zu verkapseln.

Für den Einsatz im menschlichen Körper sind die Anforderungen an die Eigenschaften und Qualität der Teilchen hoch. Neben Aspekten wie Agglomerationsverhalten, Toxizität, etc. ist zum Beispiel auch eine möglichst enge Größenverteilung essentiell.^[34,35]

2.1.2 Synthese von Nanopartikeln

Bei der Synthese von Nanopartikeln kann zwischen zwei grundsätzlichen Ansätzen unterschieden werden (siehe Abbildung 5), der *Top Down*-Methode („vom Großen zum Kleinen“) sowie der *Bottom Up*-Methode („vom Kleinen zum Großen“).

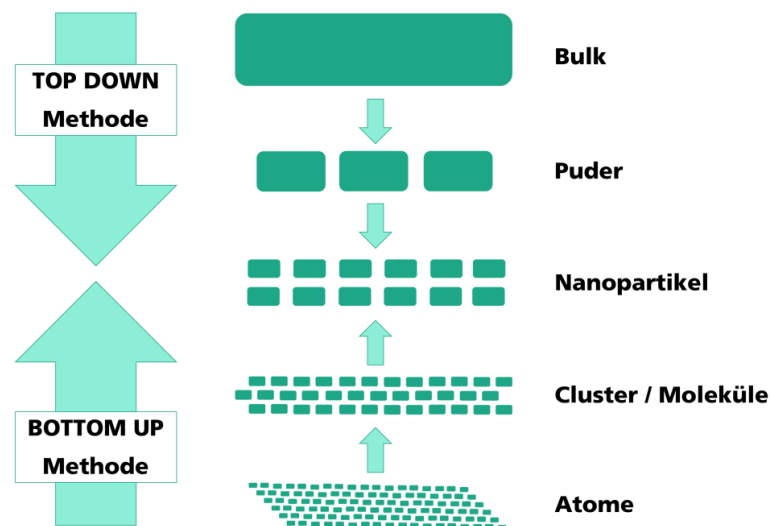


Abbildung 5: Graphische Darstellung der beiden grundsätzlichen Ansätze zur Herstellung von Nanopartikeln. Bei der *Top Down*-Methode wird ein Bulkmaterial so lange zerkleinert bis es die Größe von Nanopartikeln hat. Der *Bottom Up*-Ansatz verläuft genau entgegengerichtet; hierbei werden Atome, Cluster und Moleküle zu Nanopartikeln zusammengesetzt.

Bei der *Top Down*-Methode können mit lithographischen Verfahren tatsächlich aus größeren Gebilden Nanopartikel herausgeschnitten und Materialien kleiner 100 nm erhalten werden.^[36]

In der Regel werden allerdings nanoskalige Partikel in Mahlprozessen durch mechanische Zerkleinerung hergestellt.^[5] Derartige Mahlprozesse weisen jedoch eine Vielzahl an Nachteilen auf, die überwiegend die Anforderung im Hinblick auf Reinheit und gewünschte Partikelgröße betreffen. Durch den hohen Energieeintrag, der bei dieser Methode notwendig ist, kommt es lokal zu hohen Temperaturen und Kräften, die zu chemischen oder physikalischen Veränderungen des Materials führen können.^[5] Bei langen Mahlzeiten kann es auch zu Abrieb am Mahlkörper kommen und damit zum Eintragen von Verunreinigungen. Weiterhin ist der Prozess beschränkt in Bezug auf die minimal erreichbare Partikelgröße, bei der es typischerweise dann auch noch zu einer breiten Korngrößenverteilung kommt.^[15]

Bei der *Bottom Up*-Methode werden Atome oder Moleküle zu supramolekularen Strukturen in Nanometergröße zusammengefügt.

Zu den Verfahren des *Bottom Up*-Ansatzes gehören verschiedene nasschemische Verfahren wie Fällungsreaktionen, Hydrothermalsynthese, Mikroemulsion, Templatsynthese oder Sol-Gel-Prozesse aber auch Aerosolverfahren, die lösemittelfreie Synthesen aus der Gasphase darstellen.^[5,36–39]

Durch Gasphasensynthesen können besonders reine Partikel gewonnen werden, die vor allem eindimensionale Nanostrukturen aufweisen. Für einige Materialien wie pyrogene Kieselsäure, Ruß oder Pigmente gibt es seit Jahrzehnten etablierte Herstellungsprozesse, die im Wesentlichen auf der Verarbeitung gasförmiger oder als Aerosol vorliegender Edukte beruhen.^[5]

Mit den Flüssigphasensynthesen sind hingegen auch unterschiedlichste Partikelmorphologien herstellbar.^[15]

2.1.3 Anwendungsgebiete von Nanopartikeln

Aufgrund ihrer geringen Größe und des enormen Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnis besitzen Nanopartikel einzigartige Eigenschaften, die sie in ihrem Verhalten deutlich vom dem des Bulkmaterials aber auch dem einzelner Moleküle unterscheidet. Aus diesen Besonderheiten der Nanopartikel ergibt sich ein breites Spektrum von Anwendungen, insbesondere auch durch ihre maßgeschneiderten (Oberflächen-) Eigenschaften.

Nanopartikel und Kolloide sind zunehmend in Produkten des täglichen Lebens – wenn auch teilweise versteckt – anzutreffen. Zum Beispiel erhält Beton seine Stabilität durch Nanokristalle.^[40]

Aufgrund des enorm großen Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnisses und dem damit verbundenen Reaktionspotenzial sind Nanopartikel mittlerweile unverzichtbar für die Katalysatortechnik.^[4]

Aluminiumoxid (Al_2O_3) und Titandioxid (TiO_2) sind Bestandteile vieler Produkte der kosmetischen Industrie wie Deodorants und Zahncremes. Aufgrund veränderter optischer Eigenschaften lassen sich sogar transparente und wirksamere Kosmetika wie beispielsweise Sonnenschutzmittel herstellen.^[4]

Sogar in der Lebensproduktion werden standardmäßig Nanopartikel eingesetzt wie zum Beispiel Siliziumdioxid (SiO_2) als Verdickungsmittel für Tomatenketchup, Titandioxid (TiO_2 , auch E171) zur Aufhellung von Salatdressings und Aluminiumsilikate zur Verhinderung von Verklumpung von Lebensmitteln.^[40] Darüber hinaus werden sie auch als Geschmacksverstärker und zur Verbesserung der Haltbarkeit, des Mundgefühls sowie der Fließfähigkeit verarbeitet.

Die Kombination aus hoher Festigkeit bei geringem Gewicht macht Nanopartikel äußerst interessant für Komposite im Fahrzeugbau.

Die spezifischen Oberflächeneigenschaften können genutzt werden, um wasser- oder schmutzabweisende Textilien, Anstriche, Fenstergläser, Lacke oder bakterizide Beschichtungen zu entwickeln.

Aber auch im medizinisch-pharmazeutischen Bereich sind Nanopartikel für bildgebende Verfahren oder als neuartige Therapeutika von höchstem Interesse. Durch geeignete Modifikation von Größe und Oberflächeneigenschaften können Nanopartikel gezielt so maßgeschneidert werden, dass sie in bestimmte Zellen eindringen oder aber an diesen andocken. Je nach Spezifikation des Partikels kann dieser beispielsweise über Lumineszenz, Lichtstreuung oder Magnetismus detektiert werden. Dadurch wird die Detektion mit hoher Ortsauflösung möglich.^[9] Darüber hinaus ist auf diese Weise ein gezielter Transport und bei entsprechender Modifikation sogar eine gezielte Freisetzung von Wirkstoffen in erkranktem Gewebe möglich.

Die Möglichkeiten zur gezielten Veränderung und Anpassung der Partikeleigenschaften wie Material, Zusammensetzung, Größe und Größenverteilung, Form, Ladung, Oberflächeneigenschaften, Targeting, Hydrophobizität, Verkapselungs- und Freisetzungsmechanismen, etc. bieten enormes Potential, die Partikel und damit ihre Wirkung im Körper maßgeschneidert zu modifizieren.

2.2 Heterophasensysteme / kolloidale Systeme

Der Begriff Heterophasensysteme beschreibt die feine Verteilung einer Substanz (disperse Phase) in einem Dispersionsmittel (kontinuierliche Phase). Die beiden Komponenten sind dabei nicht oder kaum ineinander löslich. Häufig erfolgt eine Stabilisierung von Heterophasensystemen durch Dispergiermittel, sogenannte Tenside.^[41]

Heterophasensysteme sind im täglichen Leben nicht ungewöhnlich: im Bereich der Lebensmittel zum Beispiel in Form von Milch, Senf und Bier, in Hygieneartikeln wie Cremes oder Zahnpasta aber auch in der Farbindustrie als Dispersionsfarben sind sie wohlbekannt.

Als kolloidal-disperse Systeme wird die Verteilung eines Stoffes in einem Dispersionsmittel bezeichnet, wenn mindestens eine Dimension der dispergierten Phase $< 1 \text{ mm}$ ist.^[25] Die Abgrenzung kolloidaler Dispersionen gegenüber echten Lösungen liegt nach IUPAC-Definition bei etwa 1 nm .^[25,26]

Thomas Graham (1805-1869) nutzte den Begriff „Kolloide“ (Kolla = *griech. Leim*) als erster und bezeichnete damit Stoffe, die zwar in Lösung unsichtbar sind, allerdings dennoch bei der Dialyse nicht durch poröse Membranen diffundieren.^[25]

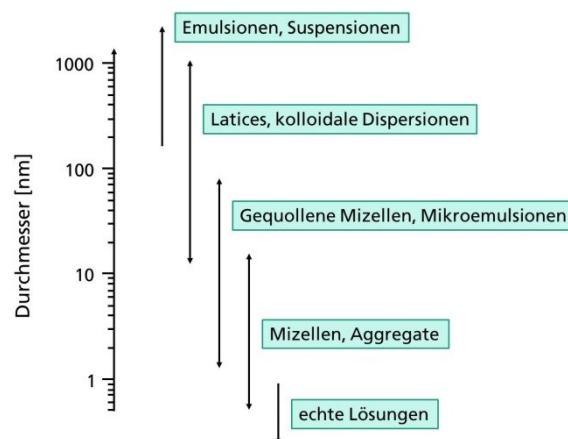


Abbildung 6: Vergleich typischer Durchmesser kolloidaler Systeme (modifiziert nach ^[25]).

Von Hermann Staudinger wurden drei Grundtypen kolloidaler Systeme zur Klassifizierung eingeführt. Dies sind zweiphasige Dispersionen (Dispersionskolloide), Lösungen makromolekularer Stoffe (Molekülkolloide) und Assoziationskolloide.

Bei den Dispersionskolloiden handelt es sich meist um thermodynamisch instabile zweiphasige Systeme bestehend aus einer dispersen Phase und einem Dispergiermittel.^[24] Die Molekülkolloide hingegen sind thermodynamisch stabile einphasige Dispersionen makromolekularer Stoffe und Biomoleküle.^[24]

Assoziationskolloide entstehen durch spontane reversible Assoziation (Selbstorganisation) von Tensiden zu kolloidal-dimensionierten Gebilden, wie zum Beispiel Mizellen.^[25] Während makromolekulare Lösungen einphasige Systeme darstellen, kann die Bildung von Mizellen sowohl mit Hilfe einphasiger Modelle (nach dem Massenwirkungsgesetz) als auch über zweiphasige Modelle (Phasentrennung) beschrieben werden.^[29]

Eine Klassifizierung von Heterophasensystemen erfolgt über die Aggregatzustände der enthaltenen Phasen. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die wichtigsten Typen zweiphasiger Systeme.

Tabelle 1: Klassifizierung der verschiedenen Arten kolloidaler Verteilungen.^[25]

kontinuierliche Phase	disperse Phase	Bezeichnung
Feststoff	Feststoff	festes Sol, fest-fest-Dispersion, Legierung
	Flüssigkeit	feste Emulsion
	Gas	fester Schaum
Flüssigkeit	Feststoff	Dispersion (Sol, Suspension, Schlicker, Paste)
	Flüssigkeit	Emulsion
	Gas	Schaum
Gas	Feststoff	Aerosol (fester Teilchen), Rauch
	Flüssigkeit	Aerosol (flüssiger Teilchen), Dunst, Nebel
	Gas	[keine Kolloide!]

Bei vielen der in Tabelle 1 aufgeführten Arten kolloidaler Dispersionen besteht die disperse Phase aus Teilchen bzw. Tröpfchen kolloidaler Dimensionen (Neben, Dunst, Rauch, Aerosole).

Dahingegen stellen Schäume relativ grobe Dispersionen von Gasblasen in einer Flüssigkeit dar, wobei die einzelnen Blasen durch Flüssigkeitsfilme kolloidaler Dicke voneinander getrennt sind. Ähnlich verhält es sich bei Emulsionen bei denen die Tröpfchen einen Durchmesser $\gg 1 \mu\text{m}$ besitzen. Dies gilt sowohl für Öl-in-Wasser-Emulsionen (O/W) als auch für inverse Emulsionen, bei denen Wassertröpfchen in Öl verteilt vorliegen (W/O).^[42] Nähern sich zwei Tröpfchen an, wird die kontinuierliche Phase bis auf einen Flüssigkeitsfilm kolloidaler Dicke verdrängt, welcher für die Stabilität der Emulsion notwendig ist.^[25]

Bei Suspensionen handelt es sich um Feststoffdispersionen mit einem in der Regel hohen Dichteunterschied zwischen kontinuierlicher und disperser Phase, sodass die Partikel aufgrund der Schwerkraft relativ schnell sedimentieren.

Deshalb ist oftmals eine Stabilisierung lediglich über sterische oder elektrostatische Mechanismen nicht ausreichend. Hier muss zusätzlich der Dichteunterschied zumindest verringert werden („*density match*“), um eine Erhöhung der Zeitkonstante des Sedimentiervorgangs zu erreichen. Dies kann entweder über eine Anpassung der kontinuierlichen Phase durch den Zusatz eines Feststoffes oder Salzes (z.B. CsCl) erfolgen oder aber durch eine Erhöhung der Viskosität der kontinuierlichen Phase, zum Beispiel durch Zugabe von Glycerin oder Zucker.^[43]

2.2.1 Stabilität kolloidaler Dispersionen

Aufgrund der auf Teilchen in kolloidalen Suspensionen wirkenden Gravitationskraft kann es bei unterschiedlichen Dichten von Partikeln und Medium zur Sedimentation kommen.^[44] Die Brown'sche Molekularbewegung wirkt der Erdanziehung entgegen und gewinnt mit abnehmender Größe der Teilchen zunehmend an Bedeutung.

In einer kontinuierlichen Phase besitzen dispergierte Teilchen nur solange eine stabile kolloidale Verteilung, wie die Teilchen durch repulsive Kräfte auseinander gehalten werden.^[25] Dies liegt daran, dass eine kolloidale Dispersion im Vergleich zum entsprechenden Material in reiner Volumenphase eine erhöhte freie Enthalpie aufweist.^[29] Durch eine Annäherung und ein irreversibles Aggregieren der Teilchen nimmt die freie Enthalpie durch Absenken der Grenzflächenenergie spontan ab. Daher ist eine ausreichend große Energiebarriere notwendig, um eine spontane Verringerung der freien Enthalpie durch Aggregation zu vermeiden. Die Stabilität einer kolloidalen Dispersion wird somit maßgeblich vom Verhältnis der auf sie wirkenden attraktiven und repulsiven Kräfte bestimmt.^[44]

Eine Stabilisierung von kolloidalen Dispersionen ist durch das Induzieren abstoßender Kräfte zwischen den Oberflächen der Kolloidteilchen möglich. Man unterscheidet dabei im Wesentlichen zwischen drei Stabilisierungsmechanismen: der elektrostatischen Stabilisierung, der sterischen Stabilisierung sowie der Verarmungsstabilisierung.

Für eine elektrostatische Stabilisierung ist es notwendig, dass das Teilchen an der Oberfläche oder der Grenzfläche Ladungen besitzt. Diese Oberflächenladungen werden von Gegenionen kompensiert, welche sich allerdings nicht direkt auf der Oberfläche befinden, sondern eine diffuse Ionenschicht um das Teilchen herum bilden. Durch die Abstoßung zwischen den diffusen Doppelschichten, welche der Anziehung der Teilchen durch Van-der-Waals-Kräfte entgegenwirkt, kommt es zu einer Stabilisierung der Dispersion.

Mit der DLVO-Theorie (siehe Kapitel 2.2.1.3) wird die Gesamtwechselwirkung zweier kolloidalen Oberflächen basierend auf attraktiven Van-der-Waals-Wechselwirkungen sowie elektrostatischer Repulsion beschrieben.^[45] Die DLVO-Theorie wurde unabhängig von Derjaguin und Landau (1941) bzw. Verwey und Obverbeek (1946) entwickelt und wird mit deren Anfangsbuchstaben abgekürzt.

Bei der sterischen Stabilisierung befinden sich makromolekulare Stabilisatoren durch Adsorption oder kovalente Bindung an der Oberfläche der Partikel. Ist die kontinuierliche Phase ein gutes Lösungsmittel für die Makromoleküle der Hülle, können sich die Hüllen der Teilchen nicht wesentlich ineinanderschieben. Durch die räumliche Ausdehnung der Stabilisatoren wird somit eine zu starke Annäherung und damit ein Aggregieren der Teilchen verhindert.

Durch gelöste, aber nicht gebundene Makromoleküle kommt es häufig zu einer Destabilisierung der Dispersion aufgrund von Verarmungseffekten (engl. *depletion flocculation*, dt. Verdrängungsflokkulation). Hierbei kommt es zur Flockung oder Phasentrennung, wobei beide Prozesse reversibel sind. Bei einer ausreichend hohen Polymerkonzentration kann es jedoch wieder zu einer Restabilisierung kommen, einer sogenannten Verarmungsstabilisierung.^[25]

Im Folgenden werden einige der unterschiedlichen Stabilisierungsmechanismen näher erläutert.

2.2.1.1 Elektrostatische Abstoßung

Damit eine Stabilisierung durch elektrostatische Abstoßung überhaupt erfolgen kann, müssen sich an der kolloidalen Oberfläche ionisierbare Gruppen befinden. In polaren Flüssigkeiten wie Wasser kommt es zum Beispiel durch pH-abhängige Adsorption oder Desorption von Protonen oder Hydroxylionen und damit zur Bildung von sogenannten „Makroionen“ mit großer Elementarladung. Die Gegenionen ordnen sich in elektrischen Ladungsdoppelschichten um die Kolloide.

Das einfachste Modell zur Beschreibung elektrischer Doppelschichten entwickelte H.L.F. von Helmholtz im Jahr 1879. Dabei wird die Oberfläche der dispersen Phase dicht von Gegenionen bedeckt. Das Potential $\Psi(x)$ dieser starren Helmholtz-Doppelschicht ist dabei entsprechend der klassischen Elektrostatik auf beiden Seiten konstant und nimmt innerhalb der Schichten linear ab.

Darauf aufbauend haben L.G. Gouy (1910) und D.L. Chapmann (1913) das Modell weiterentwickelt indem sie – analog zum Modell der Ionenwolke der Debye-Hückel-Theorie – die thermische Bewegung der Lösungsmittelmoleküle und Ionen berücksichtigen. Durch Annahme einer statistischen Verteilung der Ionen in der diffusen Doppelschicht, ergibt sich ein exponentieller Abfall des Potentials über die Schicht hinweg. Die Konzentration der Gegenionen nimmt mit zunehmendem Abstand zur Oberfläche kontinuierlich ab.

Wenn das elektrische Potential $\Psi(x)$ nur von der x-Koordinate abhängig ist und man für die Ionenkonzentrationsverteilung die Poisson-Boltzmann-Gleichung nutzt, ergibt sich folgende Formel:

$$\frac{d^2}{dx^2}\Psi(x) = -\frac{F}{\varepsilon_0\varepsilon_r}\sum_i z_i c_i \exp\left[-\frac{z_i F}{RT}\Psi(x)\right]. \quad (1)$$

$\Psi(x)$: *elektrisches Potential*

$z_i F \Psi(x)$: *elektrostatische Anziehungsenergie*

ε_0 : *elektrische Feldkonstante*

ε_r : *relative Dielektrizitätskonstante des Dispergiermittels*

z_i : *Wertigkeit der Ionen*

c_i : *Ionenkonzentration*

R : *ideale Gaskonstante*

T : *absolute Temperatur*

Im Rahmen der Debye-Hückel-Näherung mit $|z_i F \Psi(x)| \ll RT$ ist diese Gleichung geschlossen lösbar und es ergibt sich folgender Ausdruck:

$$\frac{d^2}{dx^2}\Psi(x) = \kappa^2 \Psi(x) \quad (2)$$

$$\text{mit } \kappa^2 = \frac{2F^2}{\varepsilon_0 \varepsilon_r RT} \sum_i z_i^2 c_i .$$

κ^{-1} : *Abklingrate = Debye – Hückel – Länge*

Die allgemeine Lösung dieser Differentialgleichung (Formel (2)) lautet:

$$\Psi(x) = a e^{\kappa x} + b e^{-\kappa x}. \quad (3)$$

Für $\Psi(x) = 0$ mit $\lim_{x \rightarrow \infty} \Psi(x) = 0$ ergibt sich als Lösung für Formel (3):

$$\Psi(x) = \Psi(x) e^{-\kappa x}. \quad (4)$$

Dies bedeutet, dass das Potential exponentiell abnimmt bei zunehmendem Abstand zur Kolloidoberfläche. Also ist das Potential bei einem Abstand von $x = \frac{1}{\kappa}$ um den Faktor e kleiner als an der Oberfläche des Kolloids. Die Entfernung $\frac{1}{\kappa}$ von der Oberfläche wird auch als Debye-Hückel-Länge bezeichnet und gibt die Dicke der diffusen Doppelschicht an. Mit steigender Elektrolytkonzentration nimmt die Dicke der diffusen Doppelschicht ab.

Je stärker die Ladung der Oberfläche ist, umso größer ist dort auch das Potential.

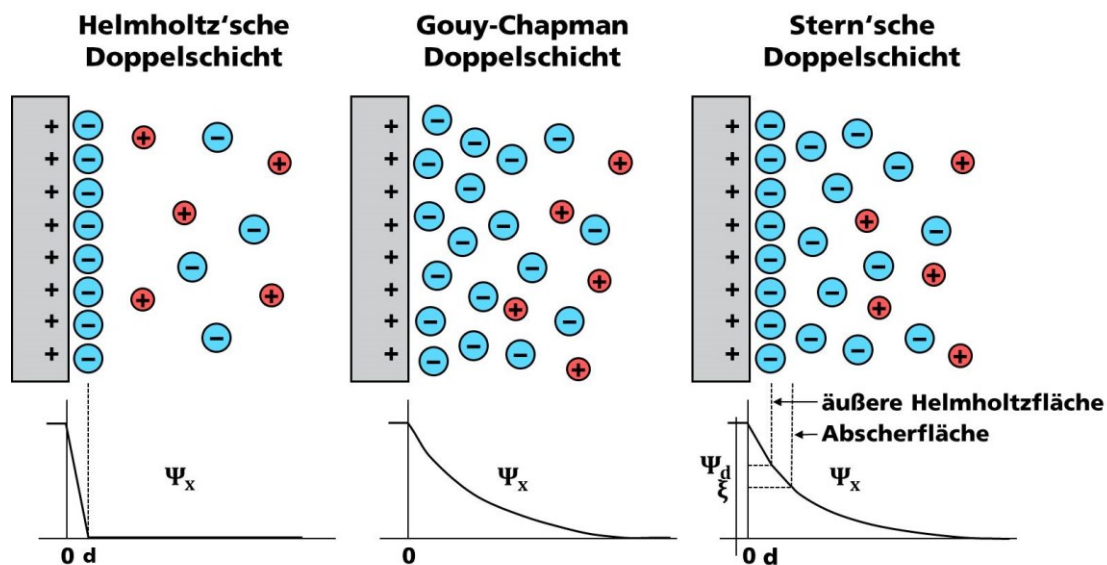


Abbildung 7: Schematische Darstellung der verschiedenen Modelle der elektrischen Doppelschicht: Helmholtz-Doppelschicht (links), Gouy-Chapman Doppelschicht (Mitte) und Sternsche Doppelschicht (rechts).

Da in der Theorie von Gouy-Chapman Ionen als punktförmig betrachtet werden, können sie dadurch unendlich nahe an die Oberfläche des Kolloids herankommen. O. Stern entwickelte 1924 ein Modell, das die räumliche Ausdehnung der Ionen berücksichtigt.

In diesem Modell gibt es zwei Schichten: eine innere Schicht (= Stern-Schicht), die der Helmholtz-Doppelschicht entspricht und eine äußere Schicht, welche der Gouy-Chapman-Schicht entspricht. Die innere Stern-Schicht besteht aus Gegenionen, die so fest an der Oberfläche adsorbiert sind, dass sie nicht von der thermischen Bewegung der Lösung beeinflusst werden. Besitzen die Gegenionen einen Radius d , so gibt es eine Ebene auf der die Mittelpunkte der adsorbierten Gegenionen liegen und welche um den Abstand d von der Oberfläche entfernt liegt. Diese Ebene wird als äußere Helmholtz- oder auch Stern-Fläche bezeichnet.

Das elektrische Potential $\Psi(x)$ zwischen der Oberfläche und der Stern-Fläche nimmt näherungsweise linear ab. Weiter von der Oberfläche entfernt, $x \geq d$, im Bereich der diffusen Doppelschicht gilt analog dem Gouy-Chapman-Modell (siehe Formel (1)) ein exponentieller Abfall des elektrischen Potential $\Psi(x)$.

Als Abscherfläche wird die Fläche bezeichnet, an der der Übergang von den adsorbierten Gegenionen hin zu den thermisch bewegten Gegenionen stattfindet. Der spezifische Wert, den das Potential $\Psi(x)$ dort besitzt, wird mit ζ gekennzeichnet. Dieses ζ -Potential kann mit elektrophoretischen Messungen bestimmt werden und liegt typischerweise in einem Bereich von $\zeta = \pm 100$ mV.

2.2.1.2 Van-der-Waals Anziehung

Die nach dem niederländischen Physiker J. D. van der Waals benannte attraktive, kurzreichweitige von-der-Waals-Kraft ist entscheidend bei der Wechselwirkung zwischen zwei Teilchen bei nichtstabilisierten Kolloiden. Diese anziehende Kraft liegt in der Fluktuation der Elektronendichte innerhalb der Elektronenhülle begründet, welche wiederum auf der Polarisierbarkeit der Teilchen beruht.^[46,47]

Die van-der-Waals Wechselwirkung ($V_A(r)$) zwischen zwei Kolloidteilchen lässt sich nach der Theorie von H. C. Hamaker durch das Aufsummieren aller einzelnen van-der-Waals Potentiale erhalten:

$$V_A(r) = -\frac{A}{6} \left[\frac{2R^2}{r^2 - 4R^2} + \frac{2R^2}{r^2} + \ln \left(1 - \frac{4R^2}{r^2} \right) \right] \quad (5)$$

mit $A = \pi^2 C q_1 q_2$.

$V_A(r)$: *van – der – Waals Wechselwirkung zwischen zwei Kolloidteilchen*

A : *Hamaker – Konstante*

R : *Radius eines Kolloidteilchens*

r : *Abstand der Zentren, der wechselwirkenden Teilchen*

C : *Interaktionskonstante*

q_1, q_2 : *Anzahl der Atome bzw. Moleküle pro Volumeneinheit der beteiligten Stoffe*

Für den Grenzfall großer Abstände zwischen zwei Kolloidteilchen ergibt sich in Analogie zu Atomen eine Abnahme der van-der-Waals Wechselwirkung proportional zu $\frac{1}{r^6}$.

$$\lim_{x \rightarrow \infty} V_A(r) = -\frac{16}{9} A \left(\frac{R}{r} \right)^6. \quad (6)$$

Für den Grenzfall eines geringen Abstandes der beiden Teilchen ergibt sich für das Potential:

$$\lim_{x \rightarrow 2R} V_A(r) = -\frac{A}{12} \frac{R}{(r - 2R)}. \quad (7)$$

Bei einem Abstand von $r \approx 2R$ gibt es ein tiefes Minimum der repulsiven Kräfte aufgrund der van-der Waals Wechselwirkung, welches um ein Vielfaches höher sein kann als die thermische Energie $k_B T$. Die durch das disperse Medium vermittelte thermische Energie ist somit nicht ausreichend für die Kolloide, um dieses Minimum zu verlassen, was eine irreversible Aggregation der Teilchen bedingt.

Die Hamaker-Konstante A wird durch die Materialeigenschaften der Kolloide relativ zum umgebenen Medium bestimmt; vor allem durch den Unterschied der frequenzabhängigen Polarisierbarkeit, welche wiederum durch die Interaktionskonstante C beschrieben wird.^[29]

Sowohl der Abstand der Teilchen als auch der Elektrolytgehalt der Dispersion haben in erster Näherung keinen Einfluss auf die Hamaker-Konstante A , welche für Polymere (Latices) einen Wert von $A \approx 0,3 - 1,4 \cdot 10^{-20} \text{ J}$ besitzt.^[29]

Die van-der-Waals Wechselwirkungen zwischen kolloidalen Teilchen über ein Medium (A_{131}) ergeben sich aus der Wechselwirkung zweier Teilchen miteinander (A_{11}), der Wechselwirkung der Teilchen mit dem Medium (A_{13}) und der Wechselwirkung des Mediums mit sich selbst (A_{33}):

$$A_{131} = A_{11} + A_{33} - 2A_{13} \quad (8)$$

A_{131} : Wechselwirkung kolloidaler Teilchen in einem Medium

A_{11} : Wechselwirkung zweier Teilchen miteinander

A_{33} : Wechselwirkung des Mediums mit sich selbst

A_{13} : Wechselwirkung eines Teilchens mit dem Medium

2.2.1.3 DLVO-Theorie

Die DLVO-Theorie wurde nach den beiden Russen B. W. Derjaguin und L. D. Landau sowie den beiden Niederländern E. J. W. Verwey und J. T. G. Overbeek benannt, welche unabhängig voneinander diese quantitative Theorie in den 1940er Jahren entwickelten.

Die DLVO-Theorie beschreibt die Stabilität kolloidaler Systeme basierend auf attraktiven und repulsiven Wechselwirkungen zwischen den dispergierten Teilchen. Bei großen Abständen der Teilchen voneinander dominieren die repulsiven Kräfte zwischen den elektrischen Doppelschichten, während bei kleinen Abständen die anziehenden van-der-Waals Wechselwirkungen überwiegen.

Dabei geht die DLVO-Theorie von zwei gleichgroßen, kugelförmigen Kolloidpartikeln aus. Die Kräfte, die zwischen diesen Teilchen wirken, führen zu einer potentiellen Energie V_T , die eine Funktion des Abstandes zwischen den Partikeloberflächen ist.^[29] Diese besteht aus drei Komponenten, der van-der-Waals Anziehung V_A , welche weitestgehend unabhängig von dem Salzgehalt ist, sowie der elektrostatischen Abstoßung V_R , welche sehr empfindlich auf die Elektrolytkonzentration reagiert (vergleiche Kapitel 2.2.1.4) sowie der Bornschen Abstoßung V_B bei sehr geringen Abständen zwischen den Partikeln ($< 0,1$ nm), die deutlich stärker ist als die van-der-Waals Anziehung:

$$V_T(r) = V_A(r) + V_R(r) + V_B(r) \quad (9)$$

$V_T(r)$: Gesamtwechselwirkung

$V_A(r)$: van – der – Waals Wechselwirkung

$V_R(r)$: Elektrostatische Abstoßung

$V_B(r)$: Bornsche Abstoßung

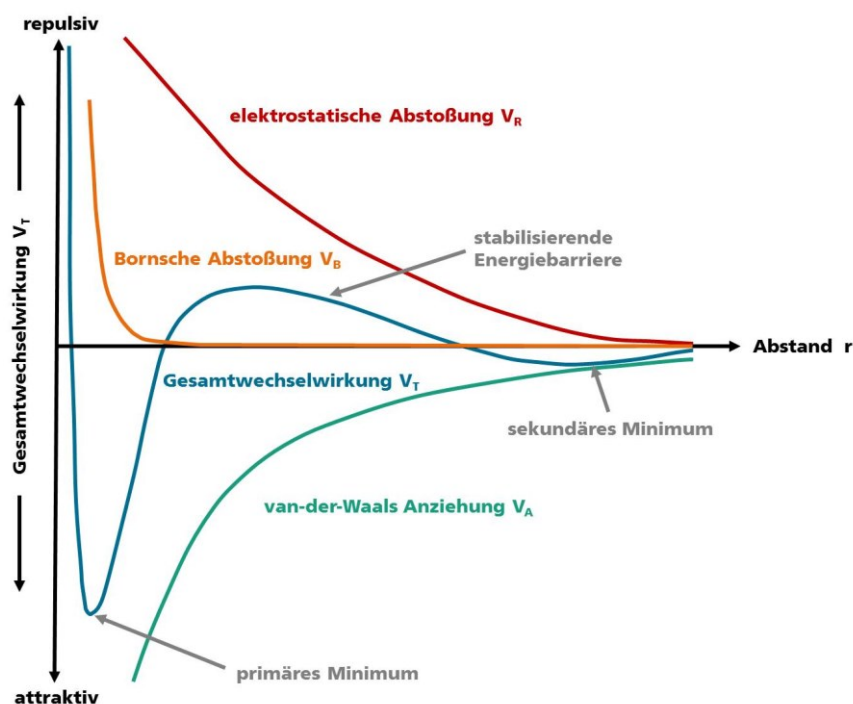


Abbildung 8: Schematische Darstellung des Wechselwirkungspotentials V_T bei der Annäherung zweier Kolloide nach der DLVO-Theorie, welches sich aus der van-der-Waals Wechselwirkung V_A , der elektrostatischen Abstoßung V_R und der Bornschen Abstoßung V_B zusammensetzt.

Der Übergang zwischen stabilem und instabilem Kolloid wird in der DLVO-Theorie als der Wert definiert, an dem das Maximum die x-Achse (Abstand der Partikeloberflächen) schneidet.

Aufgrund der Bornschen Abstoßung V_B strebt die Gesamtwechselwirkung V_T für $r \rightarrow 0$ nicht gegen ∞ , sondern besitzt bei einem sehr kleinen Wert für r ein tiefes, sogenanntes primäres Minimum, welches dem interpartikulären Mindestabstand aggregierter Kolloide entspricht. Da bei einem direkten Kontakt der Kolloide die Elektrolytlösung verdrängt würde und die Gegenionen ihre Hydrathülle verlieren würden, verbleibt in der Regel ein Mindestabstand von zwei Wasserschichten zwischen den Teilchen. Bei stark hydratisierten Gegenionen oder spezifisch absorbierten großen, organischen Ionen kann dieser Abstand jedoch auch deutlich größer sein.

Dadurch kann, wie in Abbildung 8 erkennbar, noch ein weiteres lokales, sogenanntes sekundäres Minimum auftreten. Wenn dieses sekundäre Minimum kleiner ist als $\frac{RT}{N_A}$, dann können sich die Kolloidteilchen reversibel zusammenlagern. Dies wird als Flokkulation bezeichnet und kann – im Gegensatz zur irreversiblen Koagulation – durch Schütteln rückgängig gemacht werden.

Eine Einschränkung bei der DLVO-Theorie liegt darin, dass sie nur für geringe Salzkonzentrationen ($\leq \sim 0,01$ M), bei denen elektrostatische Kräfte dominieren, zuverlässig angewendet werden kann, bei hohen Salzkonzentrationen jedoch an Gültigkeit verliert. Dies liegt darin begründet, dass bei der DLVO-Theorie die Poisson-Boltzmann Gleichung, welche Ionen in Lösung als Punktladung behandelt, zur Beschreibung der elektrostatischen Abstoßung verwendet wird, und dadurch die Ionenspezifität verloren geht. Die Erweiterung der DLVO-Theorie durch Einführung eines zusätzlichen Dispersions-Potentials (Ninham et al.^[48]) ermöglicht so die Beschreibung des Einflusses spezifischer Ioneneffekte auf die Wechselwirkung zwischen geladenen Kolloiden.

2.2.1.4 Einfluss der Ionenstärke

Die Stärke der elektrostatischen Abstoßung ist abhängig von der Elektrolytkonzentration, da bei steigender Ionenstärke die elektrische Doppelschicht, welche repulsiv wirkt, zunehmend komprimiert wird und somit das Abstoßungspotential abnimmt; gleichzeitig gewinnen die kurzreichweitigen, anziehenden van-der-Waals Kräfte an Bedeutung und es kann zu einem Koagulieren der Kolloide kommen (vergleiche Kapitel 2.2.1.1).

Bewegliche Ladungsträger – Ionen – beeinflussen durch eine Abschirmung der elektrischen Felder kolloidaler Teilchen deren attraktive van-der-Waals Wechselwirkung (vergleiche Kapitel 2.2.1.2).

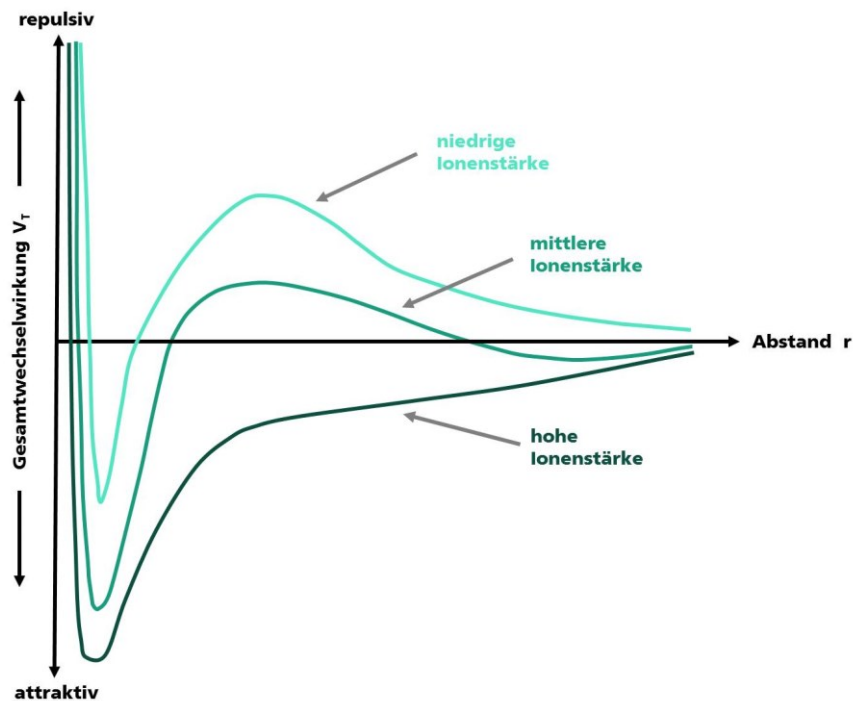


Abbildung 9: Schematische Darstellung des Einflusses der Ionenstärke auf das Gesamtwirkungspotential nach der DLVO-Theorie.

Mit steigender Ionenstärke nimmt das repulsive Maximum des Wechselwirkungspotentials ab bis bei hohen Ionenstärken keine abstoßenden Kräfte mehr wirken.

Bei einer niedrigen Ionenstärke und somit einer dicken elektrischen Doppelschicht gibt es ein ausgeprägtes Maximum der potentiellen Energie (siehe Abbildung 9). In diesem Fall ist eine sehr hohe Aktivierungsenergie notwendig, damit es zur Koagulation kommen kann, daher kann das Kolloid als (meta-)stabil bezeichnet werden.

Da sich mit zunehmender Ionenstärke gleichzeitig die Debye-Länge verringert (aufgrund der Abschirmung der elektrischen Doppelschicht), nimmt das Maximum des Wechselwirkungspotentials ab (mittlere Ionenstärke) und verschiebt sich hin zu kleineren Abständen der Kolloide voneinander oder verschwindet sogar vollständig (hohe Ionenstärke). Somit kommt es zu einer charakteristischen Ionenkonzentration, bei der eine Koagulation der Teilchen erfolgt. In der Literatur wird dieser Wert mit CCC (engl. *critical coagulation concentration*, dt. kritische Koagulationskonzentration) bezeichnet und oftmals als Maß für die Stabilität kolloidaler Dispersionen verwendet.

Der CCC hängt stark von der Ladungszahl der Gegenionen ab und wird durch die Schulze-Hardy-Regel beschrieben.^[49]

Die kritische Koagulationskonzentration CCC wird zwar überwiegend durch die Wertigkeit der Gegenionen bestimmt, allerdings ändert sie sich auch innerhalb einer Reihe von homologen Ionen; z.B. vom Lithiumion hin zum Cäsiumion.

Der Einfluss der Gegenionen folgt der lyotropen Reihe, welche von F. Hofmeister bereits 1888 zur Beschreibung der proteinfällenden Wirkung von Salzen aufgestellt wurde (siehe Abbildung 10).

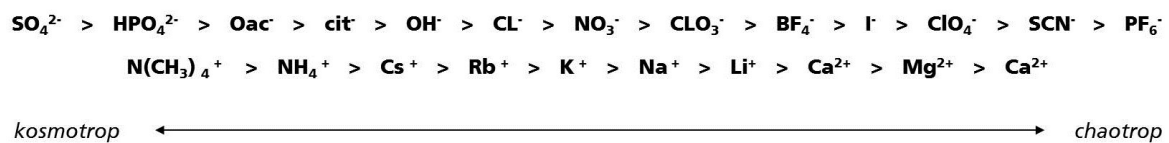


Abbildung 10: Hofmeister Reihe für Kationen und Anionen.

Auf der linken Seite der Hofmeister Reihe (siehe Abbildung 10) befinden sich die kosmotropen Salze. Diese erhöhen aufgrund ihrer stark hydratisierten Anionen (bzw. schwach hydratisierten Kationen) die Oberflächenenergie des Lösungsmittels und erniedrigen dadurch die Löslichkeit unpolarer Moleküle. Dies wird als „*Salting-out*“-Effekt bezeichnet. Im Gegensatz dazu stehen auf der rechten Seite der Hofmeister Reihe die chaotropen Salze, welche die Löslichkeit unpolarer Moleküle erhöhen und zu einem „*Salting-in*“-Effekt führen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass kosmotrope Salze hydrophobe Wechselwirkungen verstärken und somit Dispersionen destabilisieren; chaotrope Salze hingegen die hydrophoben Wechselwirkungen abschwächen und zu einer Stabilisierung der Dispersion führen.^[29]

2.2.2 Grenzflächen- und Oberflächenspannung

Als Grenzfläche wird die Schicht zwischen zwei nicht mischbaren Stoffen bezeichnet. Bei einer Phasengrenzfläche zwischen Luft und einer Flüssigkeit oder einem Festkörper wird diese auch Oberfläche genannt.^[50]

An der Grenzfläche zweier nicht mischbarer Flüssigkeiten tritt Grenzflächenspannung auf. Befindet sich eines der beiden Fluide allerdings in der Gasphase, so spricht man an der Grenzfläche von Oberflächenspannung.^[51]

Der Grund für die Existenz von sowohl Grenzflächenspannung als auch Oberflächenspannung liegt darin begründet, dass unterschiedlich starke Kräfte auf die Moleküle der Fluide einwirken (siehe Abbildung 11).

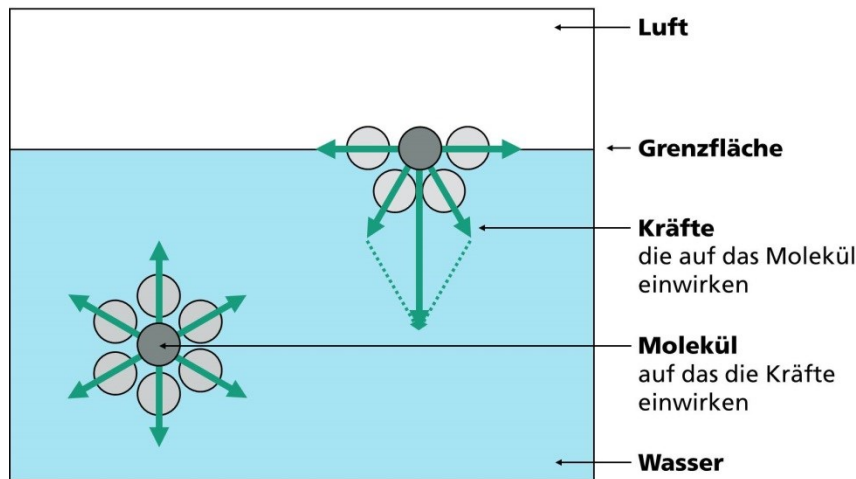


Abbildung 11: Schematische Darstellung der Kräfte, die auf Moleküle im Wasser und an der Wasser/Luft-Grenzfläche einwirken (modifiziert nach ^[42]).

Vergleicht man Moleküle innerhalb einer Lösung mit denen an der Grenzfläche, so sind sie unterschiedlichen Kräften ausgesetzt. Auf Moleküle innerhalb der gleichen Substanz wirken durch die Nachbarmoleküle von allen Seiten gleiche Kräfte. Im Gegensatz dazu, finden bei Molekülen an der Grenzfläche diese Wechselwirkungen mit den benachbarten Molekülen nur innerhalb der Lösung statt. Daraus resultiert eine ins Innere der Phase gerichtete Kraft. Dies ist der Grund dafür, dass die Moleküle an einer Grenzfläche eine höhere Energie besitzen als diejenigen in der Lösung. Diese auf die freie Oberfläche wirkende Kraft wird als Grenz- oder Oberflächenspannung σ bezeichnet und ist dafür verantwortlich, dass Flüssigkeiten bestrebt sind ihre Oberfläche zu minimieren.^[42,50]

Die Oberflächenspannung σ lässt sich dadurch bestimmen, dass sie direkt proportional zu der Arbeit dW ist, welche aufgewendet werden muss, um eine Oberfläche A um eine Flächeneinheit dA zu vergrößern (siehe Gleichung (10)).

$$\sigma = \frac{dW}{dA} \quad (10)$$

σ : Grenz – oder Oberflächenspannung
 dW : aufzuwendende Arbeit
 dA : Vergrößerung der Oberfläche

Somit ist die Größe der Oberflächenspannung abhängig von den Wechselwirkungskräften zwischen verschiedenen Molekülen.^[50] Daher unterscheiden sich die Oberflächenspannungen von reinen Substanzen zu denen von Lösungen, wobei auch die Konzentration des gelösten Stoffes eine wesentliche Rolle spielt.^[42]

Werden beispielsweise Salze in Wasser gelöst, kommt es zu einer Erhöhung der Oberflächenspannung. Die Wechselwirkungen der Salze mit Luft sind unvorteilhafter im Vergleich zu denen von Wasser mit Luft. Deswegen befinden sich die Salze im Inneren der Lösung und nicht an ihrer Grenzfläche.^[50]

Organische Substanzen zeigen hingegen die Tendenz sich an der Oberfläche anzulagern und dadurch die die Oberflächenspannung zu senken.^[52]

Besonders stark wird die Oberflächenspannung von grenzflächenaktiven Substanzen wie Tensiden, Fettsäuren und Alkoholen herabgesetzt.^[42,50]

In Abbildung 12 werden die Trends der Änderung der Oberflächenspannung in Abhängigkeit der zugegebenen Substanz sowie deren Konzentration schematisch veranschaulicht.

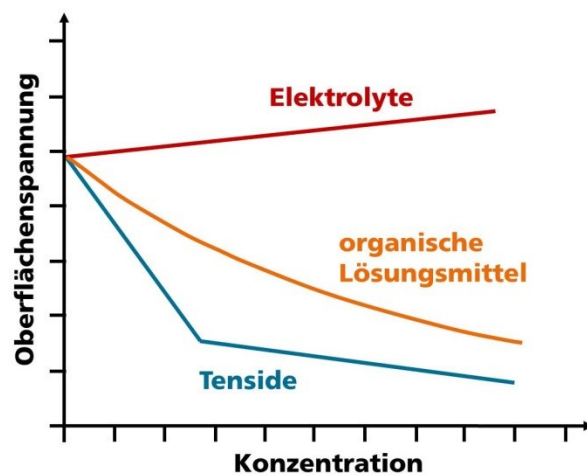


Abbildung 12: Schematische Darstellung der Änderung der Oberflächenspannung bei Zugabe unterschiedlicher Substanzen (modifiziert nach ^[51]).

Tenside sind grenzflächenaktiven Substanzen mit amphiphiler Struktur und werden in Kapitel 2.2.3.1 ausführlich besprochen. Aufgrund ihrer Struktur lagern sich Tenside bevorzugt an der Grenzfläche an, wenn sie in ein Lösungsmittel gegeben werden, und ändern dadurch die Oberflächenspannung. Bei Wasser als Lösungsmittel verbleibt der hydrophile Teil des Tensids im Wasser und der hydrophobe Teil ragt in die Luft. Für diese Anordnung muss weniger Energie aufgewendet werden als für Wassermoleküle an der Grenzfläche. Daher kommt es bei Zugabe eines Tensids zu einer Verringerung der Oberflächenspannung.^[42]

Abbildung 13 zeigt schematisch die Oberflächenspannung σ als Funktion der Tensidkonzentration c .

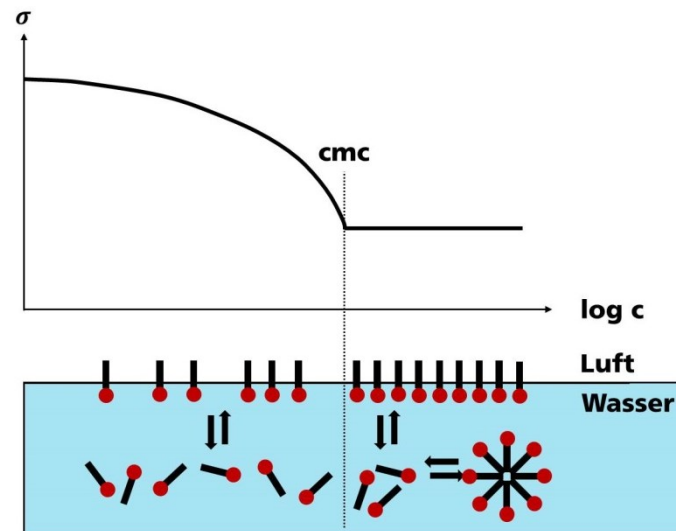


Abbildung 13: Schematische Darstellung der Abhängigkeit der Oberflächenspannung σ vom Logarithmus der Tensidkonzentration c . Die Oberflächenspannung sinkt mit steigender Tensidkonzentration bis bei einem spezifischen Wert ein Plateau erreicht wird. Die Konzentration bei der dieses Plateau beginnt, wird als die kritische Mizellenbildungskonzentration (CMC, engl. *critical micelle concentration*) bezeichnet (modifiziert nach ^[42]).

Durch die Anlagerung der Tensidmoleküle an die Grenzfläche wird die Oberflächenspannung verringert. Ab einer spezifischen Konzentration, der sogenannten kritischen Mizellenbildungskonzentration (CMC, engl. *critical micelle concentration*), ändert sich die Oberflächenspannung nicht mehr, da nun die Oberfläche vollständig mit Tensidmolekülen belegt und die Volumenphase mit monomeren gelösten Tensidmolekülen gesättigt ist.^[42]

Bei weiterer Erhöhung der Tensidkonzentration, können diese weder an der Oberfläche adsorbieren – da diese bereits vollständig belegt ist – noch sich monomer in der Volumenphase lösen – da diese bereits gesättigt ist. Um die ungünstigen Wechselwirkungen des hydrophoben Tensidteils mit dem Wasser zu minimieren, lagern sich die Tensidmoleküle zu Mizellen zusammen.

Oberhalb der kritischen Mizellenbildungskonzentration kommt es bei einigen physikalischen Eigenschaften (Trübung, osmotischer Druck, Oberflächenspannung und äquivalente Leitfähigkeit) zu signifikanten Änderungen ihres Verlaufs in Abhängigkeit der Tensidkonzentration. Dies ist in Abbildung 14 schematisch dargestellt.

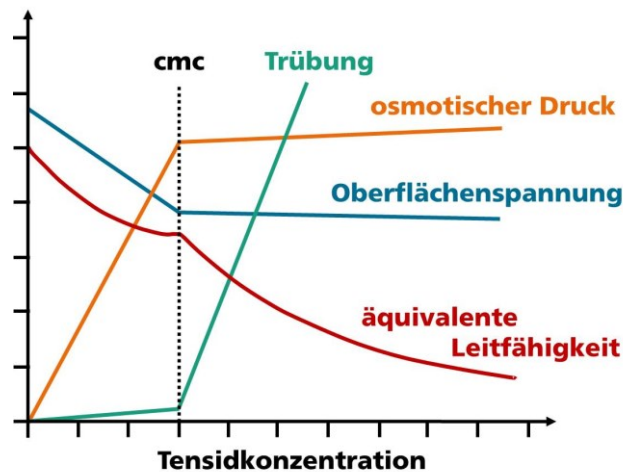


Abbildung 14: Schematische Darstellung einiger physikalischer Eigenschaften (Trübung, osmotischer Druck, Oberflächenspannung und äquivalente Leitfähigkeit) und deren Verhalten unterhalb und oberhalb der kritischen Mizellenbildungskonzentration (CMC, engl. *critical micelle concentration*) in Abhängigkeit von der Tensidkonzentration (modifiziert nach [53]).

2.2.3 Emulsionen

Emulsionen sind disperse, metastabile Systeme, die aus mindestens zwei nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten bestehen. Dabei ist eine flüssige Phase (disperse / emulgierte / innere Phase) in Form von Tröpfchen in einer anderen flüssigen Phase (kohärente / kontinuierliche Phase) verteilt. Je nachdem welche Komponente die kontinuierliche Phase bildet, wird das System als direkte Emulsion (Öl in Wasser: O/W) oder als inverse Emulsion (Wasser in Öl: W/O) bezeichnet. Es gibt auch die Möglichkeit zur Herstellung von Mehrfachemulsionen, also eine O/W-Emulsion in Öl (O/W/O) oder eine W/O-Emulsion in Wasser (W/O/W).

Das Phasenvolumenverhältnis, die Teilchengröße sowie die Größenverteilung bestimmen die physikalischen Eigenschaften von Emulsionen. Bis zu einem Phasenvolumenverhältnis von etwa $\frac{0,3}{0,7} \approx 0,4$ (also mit einem Anteil von 30 % der inneren Phase am Gesamtvolumen) werden die Eigenschaften der Emulsion weitgehend von der äußeren Phase bestimmt.^[25] Bei diesem Phasenvolumenverhältnis bewegen sich die Tröpfchen nahezu unabhängig voneinander und bei O/W-Emulsionen ist die Viskosität ähnlich der von Wasser. Bei höheren Anteilen der inneren Phase steigt die Viskosität stark an und es kommt oftmals zu einer Phasenumkehr.

Aufgrund der thermodynamischen Instabilität wird die dispergierte Phase bestrebt sein, durch ein Zusammenfließen zu einer einheitlichen Phase, den Ausgangszustand vor Bildung der Emulsion wieder herzustellen.

In Abbildung 15 sind die unterschiedlichen Destabilisierungsmechanismen von Emulsionen schematisch dargestellt.

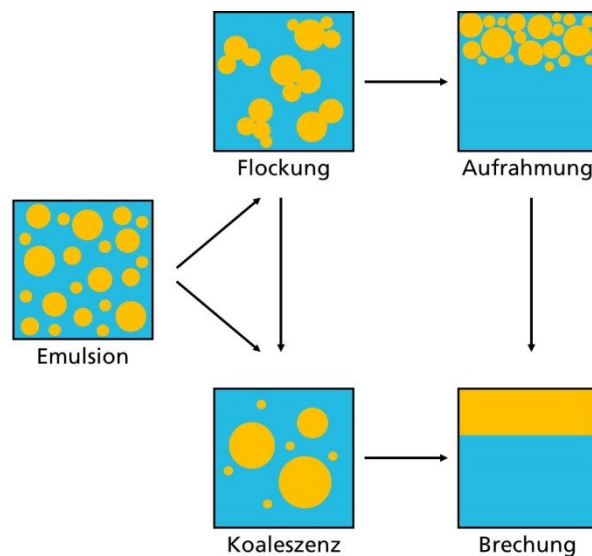


Abbildung 15: Destabilisierungsmechanismen von Emulsionen (modifiziert nach ^[25]).

Bei einer Destabilisierung einer Emulsion kann es zu einem Agglomerieren der Tröpfchen untereinander kommen (Flockung), welche jedoch reversibel ist und die ursprünglichen Tröpfchengrößen durch Schütteln oder Rühren wieder hergestellt werden können. Je nachdem wie sich die Dichte der dispersen Phase im Vergleich zur kontinuierlichen Phase verhält, kann es bei einer geringeren Dichte der dispersen Phase zu einem Aufschwimmen der Tröpfchen kommen (Aufrahmung) oder aber bei einer höheren Dichte zu einem Sedimentieren. Im Gegensatz zu einer Feststoffdispersion kann es auch zu einem Zusammenfließen der Tröpfchen kommen (Koaleszenz). Hierbei werden kleinere Tröpfchen von größeren aufgenommen bis schließlich zwei getrennte Phasen übrig bleiben und die Emulsion gebrochen ist.

Die Bildung einer Emulsion erfordert Arbeit, um beim Emulgieren einer flüssigen Phase in einer anderen flüssigen Phase die Grenzfläche zu vergrößern.^[54]

2.2.3.1 Tenside

Tenside werden als Dispergiermittel verwendet und sind Moleküle mit einem amphiphilen Charakter, d.h. sie besitzen sowohl einen polaren (hydrophilen) als auch einen unpolaren (hydrophoben) Anteil. Dadurch sind sie grenzflächenaktiv und bilden Adsorptionsschichten an Grenzflächen unterschiedlicher Polarität wie beispielsweise bei einer Emulsion zwischen den beiden nicht mischbaren Flüssigkeiten oder an der Partikeloberfläche einer Dispersion.

Tenside senken durch dieses Verhalten die Grenzflächenspannung γ , wodurch die aufzuwendende Arbeit ΔG zur Schaffung der Grenzfläche A abgesenkt wird.

$$\Delta G = \gamma \cdot A \quad (11)$$

ΔG : aufzuwendende Arbeit

γ : Grenzflächenspannung

A : Grenzfläche

Je nach Art des polaren Anteils des Tensids kann eine systematische Einteilung in nicht-ionische und ionische Tenside vorgenommen werden.^[55]

Nicht-ionische Tenside sind meist hochmolekulare Blockpolymere, welche aus einem hydrophoben Teil aus langen Kohlenwasserstoffketten und einem polarem Teil aus Polyolgruppen oder Polyoxyethyleinheiten wie zum Beispiel P(E/B-*b*-EO (Poly(ethylen-co-butylen)-*b*-ethylenoxid) bestehen. Es gibt aber auch Vertreter mit niedrigeren Molekulargewichten wie Span 80 (Polysorbat 80) oder Lutensol AT50 (Poly(ethylen-co-butylen-*b*-ethylenoxid).

Ionische Tenside können, je nachdem wie sie geladen sind, noch weiter untergliedert werden in anionische (z.B. SDS (Natriumdodecylsulfat)), kationische (z.B. CTMA-Cl (Cetyltrimethylammoniumchlorid)) und zwitterionische (z.B. Alkylbetaine).

In Abbildung 16 sind die Strukturformeln der genannten Beispiele für nicht-ionische und ionische (anionische, kationische und zwitterionische) Tenside zusammengestellt.

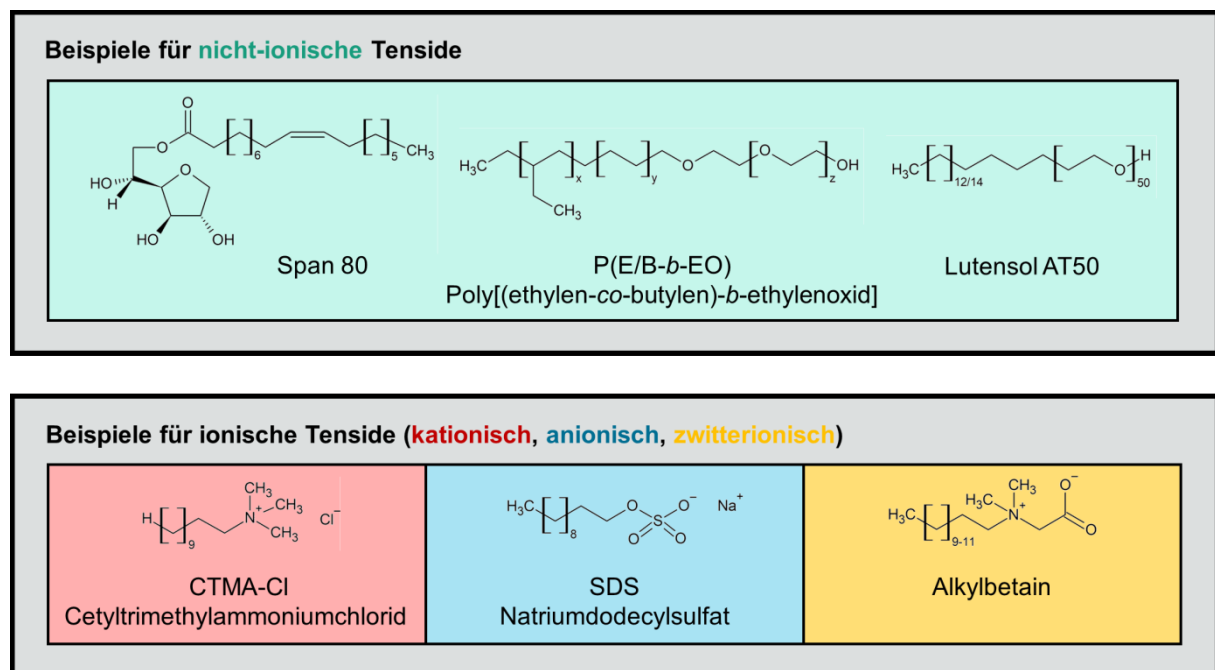


Abbildung 16: Zusammenstellung von Beispielen für nicht-ionische und ionische (anionische, kationische und zwitterionische) Tenside (modifiziert nach^[41]).

Tenside fördern den Prozess des Emulgierens und stabilisieren dann die fein verteilten Tröpfchen der Emulsion. Sie dienen dazu, die Grenzflächenspannung herabzusetzen bei einer möglichst geringen eingesetzten Menge an Tensid.

Es gibt viele Faktoren, die für die Wirksamkeit von Emulgatoren entscheidend sind. Dazu zählen unter anderem neben ihrer Löslichkeit und der Verteilung von hydrophilem und hydrophobem Anteil, ihre Diffusions- und Spreitungsgeschwindigkeit.

Diffusionsprozesse sind entscheidend für die Stabilisierung einer Emulsion. Neugebildete Tröpfchen müssen vor einem erneuten Verschmelzen geschützt werden. Daher spielt die Zeit, die ein Emulgator benötigt, um aus der Phase, in der er gelöst ist, an die Grenzfläche zu diffundieren und sich dort entsprechend seiner Hydrophilie anzuordnen, eine wesentliche Rolle für dessen Wirksamkeit.^[25] Die Anordnung erfolgt in der Regel in Form eines Films, bei dem der hydrophile Teil des Tensids in die wässrige Phase eintaucht und der hydrophobe Teil zur Ölphase ausgerichtet ist.^[54]

Die Spreitungsgeschwindigkeit von Tensiden ist relevant, wenn sich ein Teilchen in zwei kleinere zerteilt. Bei diesem Vorgang ist während der Spaltung ein Teil der Oberfläche nicht von Tensidmolekülen belegt, wodurch ein Gradient der Grenzflächenspannung zwischen dem belegten und dem unbelegten Teil resultiert. Um diesen Gradienten auszugleichen, erfolgt ein Spreiten der Tenside, d.h. eine Verringerung der Packungsdichte, bis ein Ausgleich durch Diffusion neuer Tensidmoleküle erfolgt ist.

Durch Tenside kommt es zu einer Erhöhung der Viskoelastizität der Grenzfläche und verringert so deren Beweglichkeit. Dies führt einerseits zu einer kinetischen Stabilisierung, aber andererseits wird die Zerkleinerung der zu dispergierenden Phase während des Emulgiervorgangs erschwert.^[25]

Durch den Marangoni-Effekt kommt es zu einer Förderung des Emulgiervorgangs. Die Diffusion von Tensidmolekülen in den engen Bereich zwischen zwei Tröpfchen erfolgt langsamer als die Diffusion an frei zugängliche Oberfläche. Dadurch kommt es zu einem Gradienten der Grenzflächenspannung, der eine Bewegung von Tensiden zusammen mit einer dünnen Flüssigkeitsschicht in diesen Bereich hinein bewirkt.^[25] Daraus resultiert eine Verbreiterung des Spaltes zwischen zwei Teilchen und verringert damit Koaleszenz.^[25] Der Koaleszenz entgegen wirken ebenfalls die Strömungen und Turbulenzen, die beim Zerreißen von Tropfen entstehen und dadurch gleichzeitig die Entstehung neuer Tröpfchen fördern.^[25]

Der Emulgator bestimmt maßgeblich, ob eine Wasser-in-Öl-Emulsion (W/O-Emulsion) oder eine Öl-in-Wasser-Emulsion (O/W-Emulsion) entsteht.^[25] Generell ist die kontinuierliche Phase diejenige Phase, in welcher sich der Emulgator besser löst.^[56,57]

Die benötigte Menge an Emulgator hängt von unterschiedlichen Faktoren ab. Dies sind neben der mittleren Tröpfchengröße, das Phasenvolumenverhältnis und die Grenzflächenspannung. Je feiner die Emulsion werden soll, desto größer ist die Oberfläche der Tröpfchen und desto mehr Tensid wird zur Stabilisierung benötigt. Auch bei einem größeren Phasenvolumenverhältnis werden zunehmende Mengen an Emulgator benötigt. Je stärker die Grenzflächenspannung mit der Konzentration an Tensid abnimmt umso weniger wird von dem Emulgator benötigt.^[25]

Unterschiedliche Geräte können für das mechanische Emulgieren verwendet werden. Dies sind schnell laufende Rührwerke, Schüttleinrichtungen, Vibrationsmischer, Ultraschallgeneratoren, Homogenisatoren, Emulgierzentrifugen, Kolloidmühlen oder Zerstäuber.^[25]

2.2.3.2 Stabilität von Emulsionen

Die Stabilität von Emulsionen kann sehr unterschiedlich sein; sie können nur für wenige Stunden aber auch über mehrere Jahre hinweg stabil sein. Für eine Vielzahl von Anwendungszwecken sollen Emulsionen lager-, wärme- und/oder kältestabil sein und gleichzeitig ebenfalls unempfindlich gegen Änderungen des chemischen Milieus (pH-Wert, Salzgehalt).

Ebenso wie bei Dispersionen gibt es zwei wesentliche Stabilisierungsmechanismen (vergleiche Kapitel 2.2.1): elektrostatische und sterische Stabilisierung.

Für eine elektrostatische Stabilisierung ist eine ausreichende Aufladung der Grenzfläche der Tröpfchen notwendig.^[58–60] Meist erfolgt diese durch ionische Tenside, welche aus einer hydrophoben Kohlenstoffkette (Schwanz) und einer hydrophilen, ionischen Gruppe (Kopf) bestehen. Dabei ragt der hydrophobe Schwanz des Tensids in die disperse Phase hinein und die ionische Kopfgruppe zeigt in die kontinuierliche Phase hinein.

Durch die elektrostatische Abstoßung zwischen den ionischen Gruppen wird eine Annäherung der Tröpfchen (oder Teilchen bei Dispersionen) verhindert.

Eine sterische Stabilisierung wird durch die Adsorption von höhermolekularen oder polymeren, nicht-ionischen Tensiden an der Tröpfchenoberfläche erreicht. Polymere Tenside sind meist langkettige Blockcopolymere mit hydrophoben und hydrophilen Anteilen.

Für eine ausreichende sterische Wechselwirkung zur Stabilisierung der Emulsion sind eine ausreichende Länge der Polymerketten sowie eine gute Löslichkeit, des sich in der kontinuierlichen Phase befindlichen Polymerblocks, nötig. Der Polymerblock, der schlechter in der kontinuierlichen Phase und besser im Tröpfchen lösbar ist, adsorbiert an der Tröpfchenoberfläche. Der andere Block hingegen kann sich frei in der kontinuierlichen Phase bewegen.

Eine weitere, deutlich seltener verwendete Möglichkeit zur Stabilisierung stellen kovalente Bindungen dar. Diese werden durch die Nutzung von reaktiven, polymerisierbaren Tensiden, so genannten *Surfmern*, erzielt. *Surfmer* ist ein Kunstwort, welches aus den beiden Begriffen *Surfactant* und Monomer gebildet wurde. Sie können sowohl nicht-ionischer als auch ionischer Natur sein und stabilisieren die Tröpfchen erstmal sterisch. Erfolgt die Polymerisation, welche bisher vor allem radikalisch durchgeführt wird,^[61] werden sie irreversibel in die Polymerhülle eingebaut. Der Einbau der *Surfmere* in die Partikelhülle verbessert deren Stabilität, vor allem bei Lagerung und Transport, wesentlich. Des Weiteren muss die Dispersion nicht wie üblich von freien Tensidrückständen aufgereinigt werden, die in der folgenden Anwendung schädlich sein könnten.

Darüber hinaus kommt kinetischen Faktoren eine entscheidende Rolle bei der Stabilität von Emulsionen zu. Zusammengefasst kann gesagt werden, dass alle Faktoren, die die Bewegung der Tröpfchen oder ihrer Grenzflächen erschweren, zur Stabilisierung der Emulsion beitragen.^[25]

Eine hohe Grenzflächenspannung erschwert zwar den Emulgiervorgang führt aber gleichzeitig zu einer höheren Stabilität. Hilfsstoffe zur Einstellung der Dichte können genutzt werden, um einen möglichst geringen Dichteunterschied zwischen den beiden Phasen einzustellen und somit ebenfalls die Stabilität der Emulsion zu erhöhen. Auch durch eine Erhöhung der Viskosität der kontinuierlichen Phase kann eine verbesserte Stabilität erzielt werden.

Bei sehr steifen Emulsionen kann unter Umständen auch eine Zugabe von Plastifikatoren notwendig sein, um die Viskosität zu erniedrigen. Dies ist zum Beispiel bei Margarine der Fall, um diese bei Kühlschranktemperaturen streichfähig zu halten.^[25]

2.2.3.3 HLB-Wert

Der HLB-Wert (engl. für „*hydrophilic-lipophilic balance*“) wurde 1954 von W.C. Griffin^[62] entwickelt und dient zur Klassifizierung von nicht-ionischen, oberflächenaktiven Substanzen.

Der HLB-Wert beschreibt den Grad der hydrophilen bzw. lipophilen Eigenschaften eines Tensids und kann per Definition (siehe Formel (12)) Werte zwischen 0 und 20 einnehmen:

$$HLB = 20 \cdot \left(1 - \frac{M_l}{M}\right). \quad (12)$$

M_l : Molmasse des lipophilen Anteils des Moleküls

M : Molmasse des gesamten Moleküls

Der Wert 20 wurde dabei von Griffins als Skalierungsfaktor frei ausgewählt.

Ein HLB-Wert von 0 entspricht einer vollkommen hydrophoben Zusammensetzung des Moleküls, ein HLB-Wert von 20 hingegen einem vollständig lipophilem Charakter.

In Tabelle 2 sind für verschiedene Anwendungen typische HLB-Werte der zu verwendenden Tenside angegeben:

Tabelle 2: Typische HLB-Werte (nach Griffin) für verschiedene Anwendungen.^[63]

HLB-Wert	Anwendung
0 – 3	Entschäumer
3 – 8	W/O-Emulsionen
7 – 9	Netzmittel
8 – 18	O/W-Emulsionen
11 – 15	Waschmittel
12 – 18	Lösungsvermittler

Darüber hinaus gibt es noch weitere Methoden zur Bestimmung des HLB-Wertes.

Eine erste einfache Abschätzung des ungefähren HLB-Wertes eines Tensids kann mit Hilfe der Tabelle von Kreuter^[64] erfolgen, in der das Verhalten bei Zugabe von Wasser systematisch eingeordnet ist (siehe Tabelle 3):

Tabelle 3: Abschätzung des HLB-Wertes eines Tensids aus seinem Verhalten gegenüber Wasser.

Verhalten bei Zugabe von Wasser	HLB-Wert
in Wasser dispergierbar	1 – 4
sehr schlecht dispergierbar	3 – 6
milchig nach heftigem Schütteln	6 – 8
stabile, milchige Dispersion bzw. Emulsion	8 – 10
durchscheinend bis klar	10 – 13
klare Lösung	> 13

Eine Möglichkeit zur Berechnung des HLB-Wertes aus Zahlenwerten für die jeweiligen chemischen Gruppen des entsprechenden Moleküls mit der folgenden Formel (13) stammt von Davies^[65] und Davies und Rideal^[66]:

$$HLB = 7 + mH_h - nH_l. \quad (13)$$

m : Anzahl hydrophiler Gruppen im Molekül

H_h : Wert der hydrophilen Gruppe

n : Anzahl lipophiler Gruppen im Molekül

H_l : Wert der lipophilen Gruppe

Dabei wird jeder funktionellen Gruppen des Tensids ein spezifischer Wert zugeordnet; einige Beispiele sind in Tabelle 4 angegeben:

Tabelle 4: Beispiele für HLB-Werte hydrophiler und lipophiler Gruppen nach Davies^[65], Davies und Rideal^[66] und Lin^[67].

Hydrophile Gruppen		Lipophile Gruppen	
Gruppe	H_h -Wert	Gruppe	H_l -Wert
$-\text{SO}_4\text{Na}^+$	38,7	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-$	-0,15
$-\text{COO}^-$	21,2	$-\text{CH}_3$; $-\text{CH}_2-$; $-\text{CH}=\text{}$	-0,475
tertiäres Amin	9,4	Benzolring	-0,1662
$-\text{OH}$	1,9	$-\text{CF}_2-$; CF_3	-0,87

Der Vorteil dieser Methode besteht darin, dass eine Gewichtung nach Stärke des Wechselwirkungscharakter der einzelnen Gruppen stattfindet und sich somit auch HLB-Werte für kationische und anionische Tenside definieren lassen.

Allerdings kommt es zu einer starken Abweichung berechneter HLB-Werte, je nachdem ob die Methode nach Griffin oder Davies angewendet wird.^[25]

2.2.3.4 Einteilung in Makro-, Mikro- und Miniemulsion

Des Weiteren können Emulsionen in Makro-, Mikro- und Miniemulsionen unterteilt werden. Dies erfolgt in Abhängigkeit von Tröpfchengröße, Thermodynamik (Stabilität) und Herstellung. Im Folgenden werden die drei Emulsionsarten (Makro-, Mikro- und Miniemulsion) ausführlich beschrieben. Tabelle 5 fasst bereits die wichtigsten Merkmale und deren Unterschiede zusammen.

Tabelle 5: Auflistung der wesentlichen Merkmale und Unterschiede von Makro-, Mikro- und Miniemulsionen (modifiziert nach ^[68]).

Emulsionstyp	Makroemulsion	Mikroemulsion	Miniemulsion
Tröpfchengröße	500 nm – 500 µm	5 – 20 nm	50 – 500 nm
Tensidmenge	wenig Tensid bei wenig Grenzfläche	extrem viel Tensid, Cotensid	wenig Tensid
Stabilität	kinetisch stabil gegen Koaleszenz	thermodynamisch stabil	kinetisch kritisch stabilisiert
Koaleszenz	Nein: Reaktorkonzept möglich	Ja: permanente Fusions- und Fissionsprozesse	Nein: daher Nanoreaktor-konzept möglich
Ostwald-Reifung	Ja, aber langsam, weil recht groß	unzutreffend, da thermodynamisch stabil	Nein: osmotisch stabilisiert
Herstellung	Rühren, Mischen	spontane Bildung	Ultraschall, Hochdruckhomogenisator

2.2.3.4.1 Makroemulsion

Zur Herstellung von konventionellen Emulsionen (Makroemulsionen) wird durch Rühren die Ölphase in der wässrigen Phase dispergiert. Durch den Zusatz eines Tensids wird das Emulgieren vereinfacht und die Emulsion stabilisiert.

Der mittlere Tröpfchendurchmesser von Makroemulsionen liegt im µm-Bereich. Meist ist die Größenverteilung der Tröpfchen relativ breit und die Systeme somit polydispers. Makroemulsionen erscheinen optisch trübe.^[25] Die Tensidkonzentration wird meist so gewählt, dass sie über dem CMC-Wert (engl. *critical micelle concentration*, dt. kritische Mizellbildungskonzentration) liegt. Daher liegen oftmals parallel noch Tensidaggregate bzw. Mizellen in der Emulsion vor.

Die Stabilisierung von Makroemulsionen ist kinetisch, allerdings sind sie mehrheitlich recht instabil und brechen bereits nach kurzer Zeit.

2.2.3.4.2 Mikroemulsion

Mikroemulsionen haben einen Tröpfchendurchmesser im Bereich von < 100 nm. Sie unterscheiden sich durch thermodynamische Stabilität, spontane Bildung und optische Transparenz (klar bis opaleszent) von herkömmlichen Emulsionen.^[25,69–80]

Bereits 1943 wurden von Hoar und Schulman^[81] erstmals Mikroemulsionen beschrieben, der Begriff wurde aber erst 1959, ebenfalls von Schulman et al.,^[82] eingeführt.

Oft entstehen Mikroemulsionen erst, wenn zu der Mischung aus Wasser, Öl und Tensid noch ein Cotensid oder Cosolvens dazu gegeben wird. Nur innerhalb bestimmter Gebiete der komplexen Zustandsdiagramme von drei bzw. vier Komponenten-Systemen, also nur innerhalb enger Konzentrationsbereiche der einzelnen Komponenten, ist die Bildung einer Mikroemulsion möglich. Der Vorgang der spontanen Bildung von Mikroemulsionen wird von Schulmann et al.^[82] auf eine negative Grenzflächenspannung zurückgeführt.

Der Vorteil der spontanen Bildung besteht darin, dass keine hohen Scherkräfte zur Emulgierung angewendet werden müssen wie es bei anderen Emulsionen der Fall ist.

Bei einer Mikroemulsion gibt es keine Tröpfchenidentität, sondern es existiert ein ständiges Gleichgewicht zwischen Auflösung und Neubildung von Tröpfchen. Mikroemulsionen sind daher auch nach längerem Stehen noch stabil und neigen nicht zum Brechen.

2.2.3.4.3 Miniemulsion

Miniemulsionen besitzen eine sehr enge Tröpfchengrößenverteilung im Bereich von 50 nm bis 500 nm und sind kinetisch stabil.^[83] Damit ist im Gegensatz zu konventionellen Emulsionen eine Tröpfchenidentität gegeben und jedes einzelne Tröpfchen kann als eine Art Nanoreaktor verstanden werden, in denen unabhängig voneinander Reaktionen ablaufen. Daher gibt es bei Verwendung von Emulsionen zur Miniemulsionspolymerisation bzw. einer Kombination aus der Herstellung einer Miniemulsion und Lösungsmittelverdampfungsmethode eine direkte Abhängigkeit von der Größe der Tröpfchen der Miniemulsion zu der Größe, der damit hergestellten Kolloide.

Die geringe Größe der Tröpfchen sowie eine relativ enge Größenverteilung wird bei der Herstellung einer Miniemulsion dadurch erreicht, dass der dispersen Phase ein hydrophobes Reagenz zugesetzt wird und darüber hinaus nach intensivem Rühren noch durch den weiteren Energieeintrag eine weitere Zerkleinerung und Homogenisierung der Voremulsion stattfindet.^[83]

Dieser weitere Energieeintrag dient zur Erzeugung hoher Scherkräfte und kann beispielsweise durch Ultraschall im Labormaßstab oder Hochdruckhomogenisatoren bei größeren Maßstäben hervorgerufen werden (siehe Kapitel 2.2.5). Derart hohe Scherkräfte sind notwendig, damit ein stationärer Zustand erreicht wird, bei dem ein Gleichgewicht zwischen der Teilung und dem Verschmelzen der Tröpfchen gegeben ist.^[84]

Die Zugabe einer osmotisch wirksamen Reagenz kann den osmotischen Druck innerhalb der Tröpfchen erhöhen und dadurch weitestgehend die Diffusion der dispersen Phase aus den Tröpfchen heraus, der sogenannten Ostwald-Reifung (siehe Kapitel 2.2.4), unterdrücken. Hierdurch erfolgt eine Stabilisierung der Miniemulsion. Im Falle von direkten Miniemulsionen wird diese osmotisch wirksame Substanz als Ultrahydrophob bezeichnet und häufig Substanzen wie Hexadecan^[85,86], Polydimethylsiloxan^[29] oder auch hydrophobe Comonomere^[87,88] eingesetzt. Bei inversen Miniemulsionen kann beispielsweise Natriumchlorid als entsprechendes lipophiles Reagenz genutzt werden.

Miniemulsionen besitzen die Besonderheit, dass die Grenzflächenenergie zwischen der dispersen und der kontinuierlichen Phase im Gegensatz zu Makro- und Mikroemulsionen deutlich größer Null ist, da die Oberflächenbedeckung der Tröpfchen mit Tensid unvollständig ist. Im Vergleich zu herkömmlichen Mikroemulsionen ist die verwendete Menge an Tensid gering und liegt meist sogar unterhalb der kritischen Mizellbildungskonzentration (= CMC, engl. *critical micell concentration*).

2.2.4 Alterungsprozesse

Die beiden Hauptgründe für Alterungsprozesse bei Emulsionen sind die Koaleszenz und die Ostwald-Reifung. Beide Mechanismen können durch ein Anwachsen der Tröpfchen letztendlich zum Brechen der Emulsion führen.

Bei der Koaleszenz kommt es nach einer Kollision zweier Tröpfchen zu deren Verschmelzen.

Die Ostwald-Reifung beschreibt hingegen die Diffusion der dispersen Phase von einem kleineren Tröpfchen hin zu einem größeren Tröpfchen. Aufgrund unterschiedlicher chemischer Potentiale kommt es im weiteren Verlauf zu einem Auflösen des kleineren zu Gunsten des größeren Tröpfchens.^[89]

Beide Mechanismen sind in Abbildung 17 schematisch dargestellt und werden im Weiteren diskutiert.

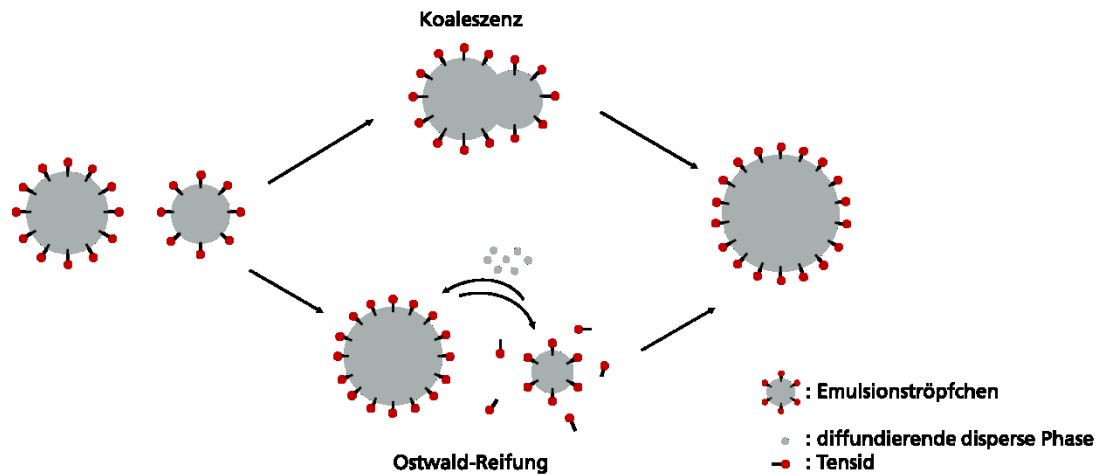


Abbildung 17: Schematische Darstellung der Koaleszenz und Ostwald-Reifung von Emulsionströpfchen.

Die Stabilität von dispergierten Teilchen in einer kontinuierlichen Phase ist nur so lange gewährleistet, wie abstoßende Kräfte sie auseinander halten und damit der Koaleszenz entgegenwirken.^[90]

Der Vorgang der Koaleszenz lässt sich in einzelne Teilschritte untergliedern. Zuerst kommt es zu einer Annäherung der Teilchen, wodurch sich die Schichtdicke des Dispersionsmediums zwischen den Tröpfchen verringert. Die Teilchen nähern sich einander soweit an, bis sich nur noch ein sehr dünner Film zwischen ihnen befindet, welcher schließlich zerreißt und die beiden Tröpfchen sich zu einem größeren Tropfen vereinigen. Dabei kommt es zu einer Verkleinerung der Gesamtoberfläche.^[90]

Bei der Annäherung der Tröpfchen und der damit verbundenen Verdrängung des Films zwischen den Teilchen ändert sich sowohl die Größe der Grenzfläche als auch die Oberflächenspannung des Films. Dadurch kommt es zu einer Erhöhung der freien Energie (Gibb'schen Energie), welche ein Maximum erreicht. Wird diese Energiebarriere überwunden, findet die Koaleszenz statt, die Gesamtoberfläche verkleinert sich und mit ihr ebenfalls die Gibb'sche Energie (vergleiche Abbildung 18).^[90]

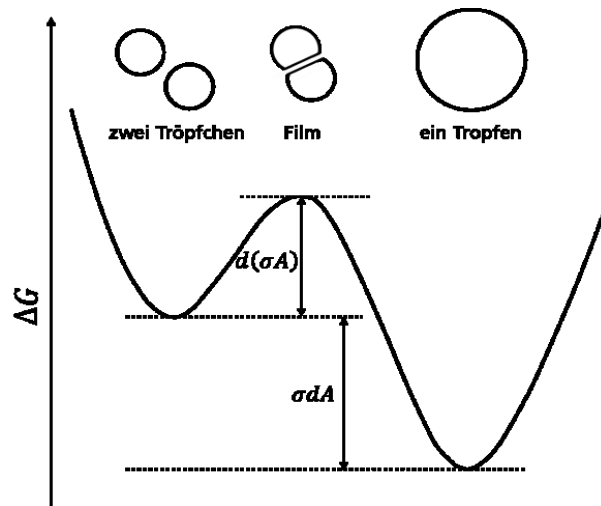


Abbildung 18: Verlauf der Gibb'schen Energie während der Koaleszenz zweier Emulsionströpfchen (modifiziert nach ^[90]).

Bei einer Annäherung der Teilchen nimmt die Grenzflächenspannung im Bereich zwischen den Teilchen im Allgemeinen langsamer ab als an der restlichen Grenzfläche. Daher kommt es zur Diffusion von Tensidmolekülen und damit zusammen gelangt auch eine dünne Flüssigkeitsschicht in den Spalt zwischen den sich annähernden Tröpfchen. Dieser Vorgang wird als Marangoni-Effekt^[91] bezeichnet und wirkt einer Verringerung der Spaltdicke und damit der Koaleszenz entgegen.^[90]

Ein weiterer Effekt, der der Koaleszenz entgegen wirkt, ist, dass beim Zerreißen von Tropfen Strömungen bzw. Turbulenzen entstehen, die die Bildung neuer Tröpfchen begünstigen.^[92]

Ein weiterer Grund für die Instabilität und schließlich das Brechen einer Emulsion ist die Ostwald-Reifung.

Die Ostwald-Reifung tritt auf, wenn der feinverteilte Stoff im Dispergiermittel in diesem dennoch eine geringe Löslichkeit besitzt. Dann kann es ohne jegliche Berührung der Teilchen zu einer Verringerung der Gesamtoberfläche des dispergierten Systems kommen. Dies liegt daran, dass kleine Tröpfchen eine verstärkte Tendenz besitzen sich zu Gunsten der größeren aufzulösen.^[90] Der Grund hierfür liegt in unterschiedlichen Laplace-Drücken ($p_{Laplace}$) der Tröpfchen:

$$p_{Laplace} = \frac{2\sigma}{r}. \quad (14)$$

$p_{Laplace}$: Laplace – Druck

σ : Grenzflächenspannung

r : Tröpfchenradius

In Gleichung (14) steht σ für die Grenzflächenspannung und r für den Radius des Tröpfchens. Aus Gleichung (14) geht hervor, dass kleinere Tröpfchen einen wesentlich höheren Innendruck und damit eine höhere Löslichkeit im Vergleich zu Tropfen mit einem größeren Radius besitzen.^[93]

Liegt eine breite Größenverteilung der Tröpfchen vor, ist das Gesamtsystem bestrebt aufgrund der unterschiedlichen chemischen Potentiale einen Ausgleich durch Ostwald-Reifung herzustellen.^[90]

Wenn Ostwald-Reifung stattfindet, führt dies über die Zeit hinweg dazu, dass kleinere Tröpfchen verschwinden, die durchschnittliche Tröpfchengröße zunimmt und die Größenverteilung der Tröpfchen immer enger wird.^[90]

In einer herkömmlichen Emulsion ist die Ostwald-Reifung kaum von Bedeutung, da die Zunahme der Tröpfchengröße durch Ostwald-Reifung in Bezug auf den Radius mit $\frac{1}{r^2}$ abnimmt, wie Gleichung (15) zeigt:

$$\frac{\delta r}{\delta t} \propto \left(\frac{1}{r^2}\right) \frac{\delta r^3}{\delta t}. \quad (15)$$

Aus Gleichung (15) ergibt sich, dass es zu einer Abnahme der Ostwald-Reifung mit zunehmender Tropfengröße und bei abnehmender Anzahldichte kommt. Ist die Emulsion allerdings sehr feinteilig oder besitzt die disperse Phase eine vergleichsweise hohe Löslichkeit, so ist die Ostwald-Reifung nicht länger vernachlässigbar.^[90]

Eine Grundvoraussetzung für ein Stattfinden der Ostwald-Reifung ist die endliche Löslichkeit der dispersen Phase in der kontinuierlichen Phase. Da der Laplace-Druck kleinerer Tröpfchen deutlich stärker ist als bei größeren Tropfen, kommt es zur Diffusion der dispersen Phase von kleinen Tröpfchen hin zu den großen. Die Wachstumsgeschwindigkeit der Tropfen wird dabei durch die Diffusionsrate der am wenigsten in der kontinuierlichen Phase löslichen Komponenten des dispersen Systems bestimmt.

Dieser Prozess kann durch die Zugabe eines Stoffes, der in der kontinuierlichen Phase unlöslich aber in der dispersen löslich ist, deutlich vermindert werden. Dieser Stoff wird im Fall einer direkten Emulsion (O/W) als Ultrahydrophob und im Fall einer inversen Emulsion (W/O) als Ultralipophob oder allgemein als osmotisch aktives Reagenz bezeichnet. Durch die Zugabe eines in der kontinuierlichen Phase unlöslichen osmotisch aktiven Reagenz, wird in den Tröpfchen der dispersen Phase ein osmotischer Druck (Π) aufgebaut, welcher dem Laplace-Druck entgegenwirkt.^[94]

$$\Pi = \frac{nRT}{\frac{4}{3}\pi r^3}. \quad (16)$$

Π : *osmotischer Druck*

R : *Gaskonstante*

T : *Temperatur*

n : *Anzahl der Moleküle der osmotisch aktiven Reagenz*

Das Unterdrücken der Ostwald-Reifung durch Zugabe eines osmotisch aktiven Reagenz ist in Abbildung 19 veranschaulicht. Würde Ostwald-Reifung stattfinden, käme es zur Diffusion von der dispersen Phase aus einem kleineren Tröpfchen hinein in einen größeren Tropfen (vergleiche Abbildung 17). Durch die Zugabe eines osmotisch wirksamen Reagenz würde dieses im kleinen Tröpfchen aufkonzentriert, während es im großen Tropfen hingegen zu einer Verdünnung führen würde. Daher wirkt der osmotische Druck der Ostwald-Reifung entgegen.

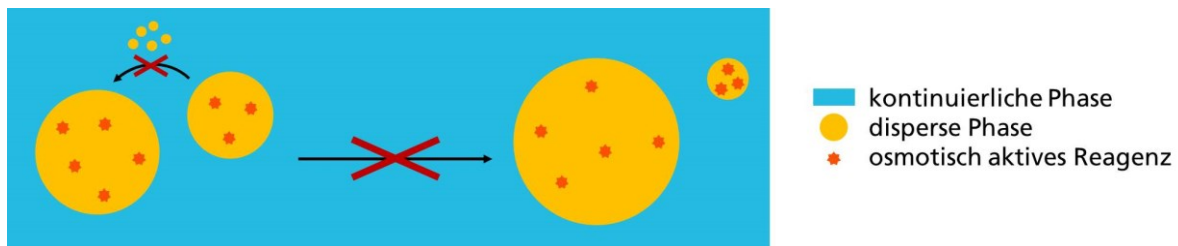


Abbildung 19: Schematische Darstellung der Unterdrückung der Ostwald-Reifung durch Zugabe eines osmotisch aktiven Reagenz (modifiziert nach [90]).

Während der Laplace-Druck als Kraft von außen auf das Tröpfchen einwirkt, ist der osmotische Druck, die von innen dagegen wirkende Kraft.^[29] Die aus der Differenz dieser beiden Drücke resultierende Nettokraft (siehe Gleichung (17)) ist die Kraft, welche auf die Grenzfläche des Tröpfchens wirkt^[68]:

$$\Delta p = p_{\text{Laplace}} - \Pi = \frac{2\sigma}{r} - \frac{nRT}{\frac{4}{3}\pi r^3}. \quad (17)$$

Δp : *Nettokraft, die auf Grenzfläche der Tröpfchen wirkt*

2.2.5 Dispergiervverfahren

Dispergiervverfahren werden eingesetzt, um einen Energieeintrag in ein zweiphasiges System zu erreichen, um so eine möglichst gleichmäßige Verteilung der dispersen Phase in der kontinuierlichen Phase zu erreichen.

Je nach System und gegebenen Bedingungen (chemische Natur der Komponenten, Menge und Art des Tensids, Temperatur, etc.) werden ab einem bestimmten Energieeintrag Tröpfchengrößen erzeugt, bei denen durch die eingesetzte Menge an Tensid die größtmögliche Grenzfläche stabilisiert wird. Diese Tröpfchengröße kann nicht weiter verringert werden und beschreibt die Grenze zwischen Stabilität und Instabilität.

In den folgenden Unterkapiteln werden drei unterschiedliche Dispergierv Verfahren (Ultraschall, Hochdruckhomogenisatoren und mikroporösen Membranen) beschrieben. In Kapitel 2.3.2 wird ausführlich auf das Dispergieren durch Einsatz von Mikromischern eingegangen.

2.2.5.1 Dispergieren durch Einsatz von Ultraschall

Die Methode des Dispergierens mit Hilfe von Ultraschall ist besonders geeignet zur Herstellung von Miniemulsionen im Labormaßstab. Mit dieser Vorgehensweise können, in Abhängigkeit von der Schallintensität, sehr hohe Scherkräfte direkt in das zu emulgierende System eingebracht werden.

Beim Dispergieren unter Verwendung einer Ultraschallspitze werden (Mini-) Emulsionen dadurch hergestellt, dass durch die permanenten Auf- und Abwärts-Bewegungen der Spitze ständig wechselnde Unter- bzw. Überdruckphasen im Medium erzeugt werden.^[95] Der so erzeugte Unterdruck, durch die Aufwärts-Bewegung der Spitze, reicht aus, damit Kavität auftritt. Das bedeutet, dass aufgrund des Unterdrucks, die Kohäsionskräfte der Flüssigkeit überwunden werden und diese „zerrissen“ wird. Dies führt aufgrund der hohen Intensität der akustischen Felder zur Bildung von Kavitationsbläschen.^[95]

In der sich daran anschließenden Überdruckphase, durch die Abwärts-Bewegung der Spitze, kommt es zum Kollabieren der Bläschen. Dabei kann es in diesen sogenannten „Hot Spots“ zur Entwicklung von Drücken bis zu 1000 bar kommen. Die hierdurch hervorgerufenen Druckwellen haben Flüssigkeitsströmungen von hoher Geschwindigkeit zur Folge.^[95–98] Hierdurch kommt es zu einem Zerreißen der benachbarten Öltröpfchen.

Allerdings kann nicht die Gesamtoberfläche aller neu erzeugten Tröpfchen durch das lokal vorhandene Tensid stabilisiert werden, wodurch einige der Tröpfchen wieder zusammenfließen. Andererseits begünstigen die Flüssigkeitsströmungen das Durchmischen der Emulsion und somit auch die Verfügbarkeit von Tensid zur Stabilisierung der neu entstandenen Tröpfchen.^[95]

Dieser Vorgang wiederholt sich sehr oft und in sehr schneller Abfolge, wodurch es über die Zeit hinweg zur Bildung und Stabilisierung immer kleinerer Tröpfchen kommt. Somit wird nach einer ausreichend langen Beschallungsdauer – welche auch vom Volumen des Reaktionssystem abhängig ist – ein Gleichgewichtszustand erreicht, bei dem Tröpfchen mit einer vom Tensid stabilisierbaren maximalen Gesamtoberfläche vorliegen.^[95]

Es ist so möglich Emulsionen herzustellen, die Tröpfchen mit einer engen und homogenen Größenverteilung besitzen.

2.2.5.2 Dispergieren durch Einsatz von Hochdruckhomogenisatoren

Hochdruckhomogenisatoren zählen zu den Strömungsdispergiermaschinen und wurden ursprünglich dazu entwickelt, um ein Aufrahmen des Milchfetts zu verhindern, indem eine Feinverteilung der Fetttröpfchen in der Milch hergestellt wurde.^[99] Aufgrund ihrer hohen Durchsatzraten finden sie Verwendung bei der Homogenisierung von Massenprodukten wie z.B. Milch, Fruchtsäften aber auch Körperlotionen.^[100]

Das Zerkleinern und Homogenisieren basiert bei Hochdruckhomogenisatoren auf dem Druckentspannungsprinzip und beruht auf der Erzeugung von Kavitation (vergleiche Kapitel 2.2.5.1). Dabei wird das Gesetz von Bernoulli angewendet, das besagt, dass in einem durchströmten System die Summe aus dynamischen zu statischem Druck konstant bleibt.^[100]

In Abbildung 20 ist der Aufbau und das Funktionsprinzip von Hochdruckhomogenisatoren schematisch dargestellt.

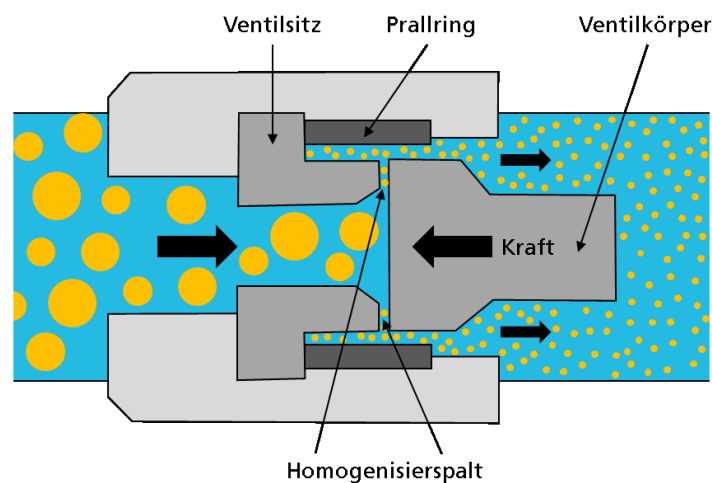


Abbildung 20: Darstellung des Aufbaus und Funktionsprinzips eines Hochdruckhomogenisators (modifiziert nach ^[101]).

Die beiden funktionellen Bauteile eines Hochdruckhomogenisators sind eine Hochdruckkolbenpumpe und ein Homogenisierventil. Durch den Einsatz mehrerer Kolben gelingt es einen druckunabhängigen und nahezu pulsationsfreien Volumenstrom zu erzeugen.

Im Homogenisierventil findet der eigentliche Vorgang des Dispergierens statt. Dazu wird der Ventilkörper auf den Ventilsitz gepresst und somit der Homogenisierspalt so weit verengt, bis der gewünschte Druckverlust erreicht wird.^[99] Durch die Verengung des Kanals des Homogenisierspaltes kommt es zu einer drastischen Erhöhung der Fließgeschwindigkeit des Fluids. Dies führt zu einem Anstieg des dynamischen Drucks bei gleichzeitigem Abfall des statischen Drucks. Sinkt der statische Druck dabei so stark, dass er den Dampfdruck der Flüssigkeit unterschreitet, beginnt diese zu siedeln und es bilden sich Gasbläschen im Schergradienten.

Beim Austritt des Fluids aus dem Homogenisierspalt wird dieses wieder auf den Umgebungsdruck entspannt. Dadurch implodieren die gerade erst gebildeten Bläschen und setzen dabei Stoßwellen frei, welche zu einer Zerkleinerung der Tröpfchen führen. Eine zusätzliche Zerkleinerung wird durch das Aufprallen des Fluids auf den Prallring beim Verlassen des Homogenisierspaltes erreicht.

Je höher der Einlassdruck und je größer der Druckabfall über den Homogenisierspalt ist, desto mehr Energie wird zum Dispergieren in das System eingetragen. Durch ein Erhöhen der Temperatur kann zudem die Differenz zwischen dem statischen Druck und dem Dampfdruck des Fluides leichter überwunden werden.^[102]

2.2.5.3 Dispergieren durch Extrusion an mikroporösen Membranen

Die beiden Methoden des Dispergierens durch Ultraschall (siehe Kapitel 2.2.5.1) oder durch den Einsatz von Hochdruckhomogenisatoren (siehe Kapitel 2.2.5.2) ermöglichen ein sehr effektives Dispergieren, haben aber den Nachteil, dass die zu dispergierenden Komponenten hohen mechanischen Belastungen ausgesetzt werden.^[103]

Nakashima et al. veröffentlichten 1991 ein Verfahren, bei dem mikroporöse Membranen zur Herstellung monodisperser Emulsionen genutzt wurden.^[104] Mit dieser Methode können Tröpfchen mit größeren Durchmessern (μm -Bereich) generiert werden. Aufgrund der milderer Prozessbedingungen ist das Verfahren besonders für Systeme, die empfindlichere Substanzen enthalten, interessant.^[104,105]

Die Größe der Tropfen und deren Verteilung sind dabei vor allem abhängig von der Porengröße der verwendeten Membran. Daher kann durch die Wahl der Membran gezielt die Tröpfchengröße und deren Verteilung eingestellt werden.

Aber auch viele weitere Faktoren – wie die Oberflächeneigenschaften der Membran, die jeweilige Viskosität von disperser und kontinuierlicher Phase, die dynamische Grenzflächenspannung des verwendeten Emulgators, die transmembrane Druckdifferenz sowie die Strömungsgeschwindigkeit der kontinuierlichen Phase – haben einen Einfluss auf die Tröpfchengröße und die Breite der Verteilung.^[106]

Zum Emulgieren wird bei diesem Verfahren die zu dispergierende Phase mit einem spezifischen Druck durch eine mikroporöse Membran in die nicht-mischbare, kontinuierliche Phase gedrückt.^[107]

Der benötigte Druck, um die disperse Phase durch die mikroporöse Membran zu drücken, setzt sich aus zwei Anteilen zusammen, dem Kapillardruck und dem hydraulischen Widerstand.^[108]

Der Kapillardruck muss – falls keine Benetzung der Membran mit der dispersen Phase stattfindet – überwunden werden, damit die disperse Phase die Poren der Membran durchströmen kann. Aufgrund der unregelmäßigen Form und komplizierten Geometrie der Membranporen kann der Kapillardruck allerdings nur mit Hilfe der Kapillardruckgleichung (Formel (18)) abgeschätzt werden. Dafür muss sowohl die Grenzfläche γ als auch der Randwinkel δ der Flüssigkeit bekannt sein. Darüber hinaus wird noch die Annahme getroffen, dass es sich um vereinzelte, zylindrische Kapillaren handelt.^[106]

$$p_K = \frac{4K \cdot \gamma \cdot \cos \delta}{d_{P,max}}. \quad (18)$$

p_K : Kapillardruck

K : Konstante, abhängig von der Porenstruktur

γ : Grenzflächenspannung

δ : Randwinkel der Flüssigkeit

$d_{P,max}$: maximaler Porendurchmesser

Der hydraulische Widerstand R_m einer Membran beschreibt den Reinstwasserfluss durch die Poren einer Membran. Eine Abschätzung kann mit der Hagen-Poiseuille-Gleichung über transmembrane Druckdifferenz Δp_{tm} erfolgen. Dabei wird vereinfacht angenommen, dass die Membran aus zylindrischen Kapillaren mit dem Durchmesser d_p und einer Länge l_p bestehen. Damit ergibt sich dann folgende Gleichung (19):^[106]

$$\Delta p_{tm} = J_W \cdot \eta_W \cdot R_m = \frac{32 \eta_W \cdot l_p \cdot v_W}{d_p^2}. \quad (19)$$

Δp_{tm} : hydraulischer Widerstand = transmembrane Druckdifferenz

J_W : Wasserflux durch die Membran

η_W : Viskosität des Wassers

R_m : hydraulischer Widerstand

l_p : Länge der zylindrischen Pore

v_W : mittlere Geschwindigkeit des Wassers in den Poren

d_p : Durchmesser der zylindrischen Pore

Die mittlere Geschwindigkeit des Wassers in den Poren v_W lässt sich auch als Quotient aus dem Wasserflux durch die Membran J_W geteilt durch die Porosität ε ausdrücken (siehe Formel (20)). Die Porosität gibt den Hohlraumvolumenanteil, also den für den Stofftransport zur Verfügung stehenden Raum, an.^[106]

$$v_W = \frac{J_W}{\varepsilon}. \quad (20)$$

ε : Porosität

Ferner lässt sich die Länge Pore l_p als Produkt aus der Dicke der Membran δ_m und dem mittleren Tortuositätsfaktor der Membranporen ξ beschreiben (siehe Formel (21)).^[106] Der mittlere Tortuositätsfaktor der Membranporen ist ein Maß für die Gewundenheit der Transportwege in den Poren poröser Materialien.

$$l_p = \delta_m \cdot \xi. \quad (21)$$

δ_m : Dicke der Membran

ξ : mittlere Tortuositätsfaktor der Membranporen

Durch Einsetzen der Formeln (20) und (21) in Formel (19) ergibt sich folgender Zusammenhang zur Beschreibung des hydraulischen Widerstandes:

$$R_m = \frac{\Delta p_{tm}}{J_W \cdot \eta_W} = \frac{32 \delta_m \cdot \xi}{\varepsilon \cdot d_p^2}. \quad (22)$$

Beim Membranemulgieren kann zwischen zwei Arten unterschieden werden, der Direktmembranemulgierung (DME) und der Premixmembranemulgierung (PME).

Bei der Direktmembranemulgierung (DME) wird die disperse Phase direkt durch eine Membran in die kontinuierliche Phase gedrückt. Bei der Premixmembranemulgierung (PME) wird zuerst eine Rohemulsion hergestellt, welche dann zur Homogenisierung durch die Membran gedrückt wird.

Beide Methoden werden in Abbildung 21 schematisch dargestellt.

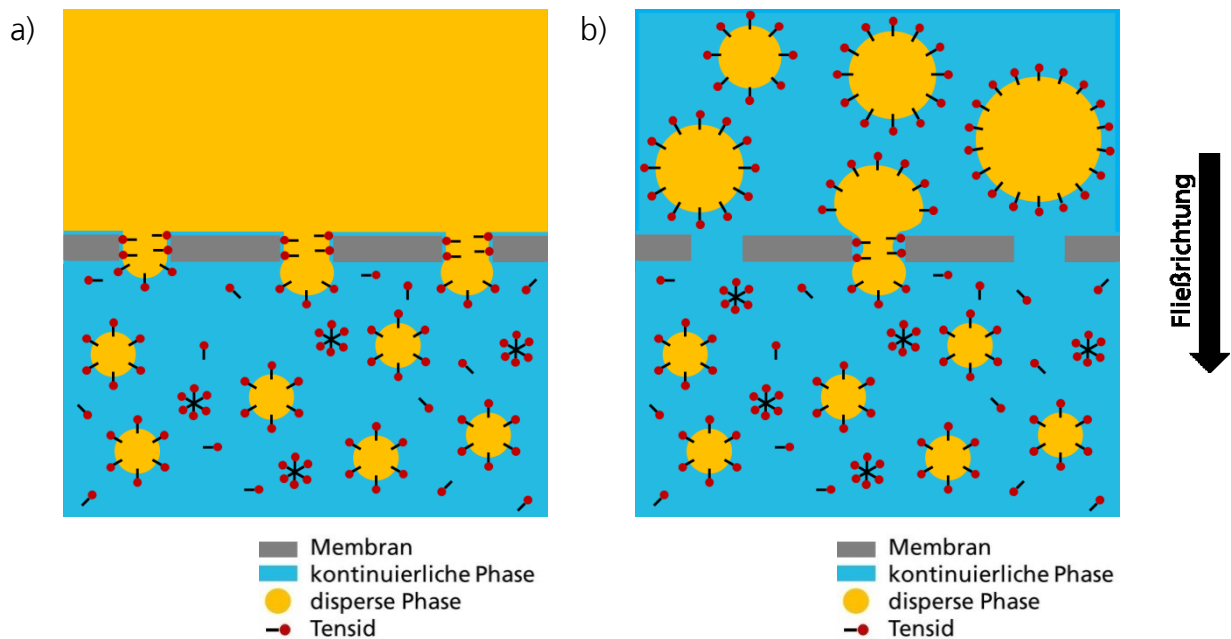


Abbildung 21: Schematische Darstellung der a) Direktmembranemulgierung (DME) und der b) Premixmembranemulgierung (PME) (modifiziert nach ^[109]).

2.3 Grundlagen der Mikroverfahrenstechnik

Die Miniaturisierung von technischen Systemen und Bauteilen hat viele Innovationen und Fortschritte in den letzten Jahrzehnten überhaupt erst möglich gemacht. Die Ziele dahinter sind die Steigerung von Leistung und Geschwindigkeit bei gleichzeitiger Einsparung von Masse/Material und Energie. Allgemein kann sie als eines der Standardkonzepte zur Weiterentwicklung bekannter Technologien angesehen werden.

Ein Beispiel aus dem alltäglichen Leben ist der Fortschritt von Mobiltelefonen hin zu Smartphones. Vor 20 Jahren besaß nur ein Bruchteil der Bevölkerung ein Mobiltelefon, welches einige hundert Gramm wog. Mittlerweile sind die Smartphones ein wahres Massenprodukt und haben durch intensive Forschung und Entwicklung drastisch an Größe und Gewicht verloren bei einer enormen Steigerung der Funktion.

Eine entscheidende Voraussetzung für diese Weiterentwicklung war die Miniaturisierung der erforderlichen Bauteile. Dafür war es zwingend notwendig, Mikrostrukturierungsverfahren zu etablieren, die präzise kleinste Strukturen in großer Stückzahl herstellen konnten.^[110]

Die Mikroprozesstechnik und die Mikroverfahrenstechnik sind sehr eng miteinander verwoben und spiegeln diesen Trend in der chemischen Forschung und Industrie wider. Dabei handelt es sich um chemische und physikalische Prozesse, die in mikrometerdimensionierten Reaktionsräumen ablaufen. Hierbei werden Effekte genutzt, die erst durch den Übergang von der Makro- hin zur Mikrostrukturierung auftreten.^[110,111]

Die Forschung auf diesem Gebiet zeichnet sich durch ihre Interdisziplinarität aus: Zum einen von dem chemisch/physikalisch/biologischen Standpunkt aus zur Verbesserung und Optimierung bekannter Synthesen, zum anderen die Erschließung vollkommen neuer Reaktionsrouten und Produkte. Damit einher geht die ingenieurwissenschaftliche Entwicklung, Konstruktion und Anpassung, der dafür notwendigen Mikroreaktoren.

Mikroprozesstechnik bedeutet nicht, dass die Reaktoren so klein sein müssen, dass sie nur noch unter einem Mikroskop sichtbar sind, sondern, dass die mikrostrukturierten Mischer und Reaktoren innere dreidimensionale Strukturen im Mikrometermaßstab besitzen.^[13,112,113]

Der Hauptunterschied im Vergleich zu konventionellen Systemen und damit die große Stärke von Mikroreaktoren und Mikromischern liegt in dem sehr hohen Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnis.

2.3.1 Mikroreaktoren

Als Mikroreaktoren werden dreidimensionale Systeme mit Strukturen im Größenbereich von 10 µm bis 1 mm bezeichnet, die in der Regel im Durchfluss betrieben werden.^[114]

Im Folgenden werden Vorteile von Mikroreaktoren im Vergleich mit konventionellen Batchsystemen diskutiert.

Wie bereits in den Grundlagen der Mikroverfahrenstechnik (siehe Kapitel 2.3) erwähnt, zeichnen sich Mikroreaktoren durch ihr enorm großes Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnis aus. Bei der Zusammenführung zweier Flüssigkeiten in mikrostrukturierten Bauteilen werden so extrem hohe Grenzflächen generiert.

Da der Vorgang des Mischens generell durch Diffusion der Moleküle erfolgt, kann durch die enorm großen Grenzflächen, die für die Moleküle zurückzulegende Strecke optimiert werden. Die zum Mischen benötigte Zeit ist proportional zur Strecke, die die Moleküle dafür durch Diffusion überwinden müssen. Da diese Entfernungen in Mikroreaktoren/-mischern um ein Vielfaches kleiner sind als in Batchsystemen, wird eine viel schnellere Durchmischung erzielt.

Dadurch können bei Reaktionen in homogener Phase Konzentrationsgradienten rascher ausgeglichen werden und so in Kombination mit einer angepassten Verweildauer und einer genauen Temperaturkontrolle, eine Optimierung der Ausbeute erzielt werden bei gleichzeitiger Minimierung von unerwünschten Nebenreaktionen.^[40]

Das modulare Grundprinzip der Mikroprozesstechnik ermöglicht eine individuelle Anpassung der Reaktionsbedingungen an die durchgeführten Prozesse.

Jede ablaufende chemische Reaktion besitzt eine eigene spezifische Zeitkonstante. Die Verweilzeit in einem Mikroreaktor kann entweder schon durch eine maßgeschneiderte Fertigung oder einfach durch Einstellen der Flussraten auf den jeweiligen Prozess angepasst werden. So kann die Bildung des Produktes optimiert und die von unerwünschten Nebenprodukten minimiert oder sogar komplett unterdrückt werden.

Neben den spezifischen Zeitkonstanten jeder Reaktion muss auch immer eine definierte Aktivierungsenergie (E_A) aufgebracht werden, damit die jeweilige Reaktion ablaufen kann. Wärme wird über die Oberfläche und nicht über das Volumen übertragen. Das Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnis (A/V-Ratio) beträgt bei mikrostrukturierten Systemen 10.000 – 50.000 m²/m³, bei Batchreaktoren sind es hingegen lediglich 100 m²/m³.^[114] Daher kann bei Mikroreaktoren eine hoch präzise Temperaturkontrolle erzielt werden, welche die in konventionellen Batchreaktoren weit übertrifft.

Dies kann vor allem entscheidende Vorteile bringen, wenn die Aktivierungsenergie des unerwünschten Nebenproduktes (leicht) höher liegt als die des angestrebten Produktes (siehe Abbildung 22).

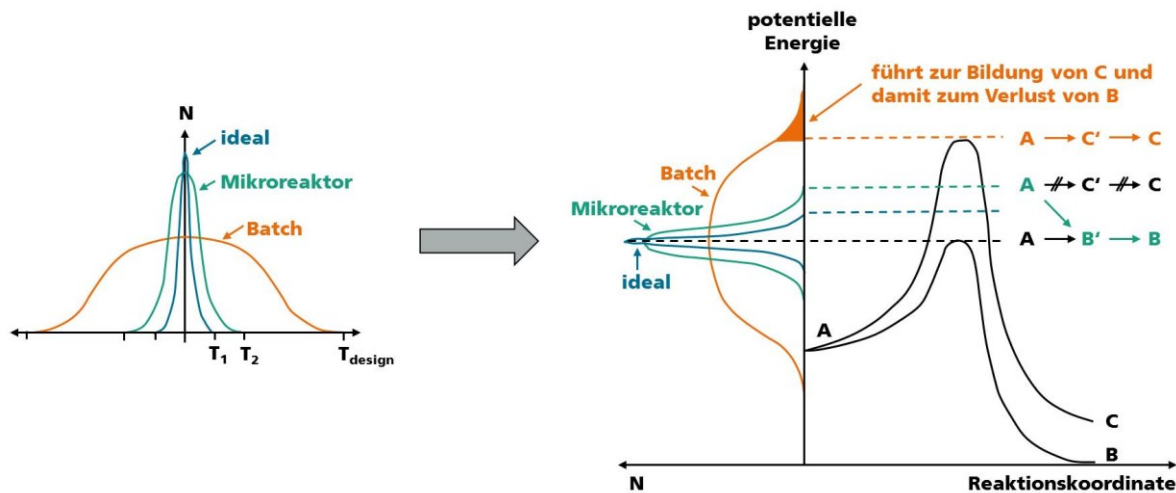


Abbildung 22: Schematische Darstellung der Temperaturkontrolle im Vergleich eines Mikroreaktors mit einem konventionellen Batchsystem (modifiziert nach ^[115]).

Auf der linken Seite der Abbildung 22 wird schematisch die Breite der Temperaturverteilung in einem Reaktionsraum angezeigt. Idealerweise ist die Temperatur überall nahezu gleich. Aufgrund des großen Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnisses bei Mikroreaktoren ist eine extrem gute Temperaturkontrolle möglich. In konventionellen Batchreaktoren kann es hingegen zu inhomogener Wärmeverteilung und zu einer *Hot Spot*-Bildung kommen.

Auf der rechten Seite der Abbildung 22 wird die Reaktion von Edukt A zu Produkt B ($A \rightarrow B$) betrachtet. Damit aus Edukt A das unerwünschte Nebenprodukt C wird, ist die Aktivierungsenergie nur geringfügig höher als die benötigte Aktivierungsenergie für das Produkt B. Ein gezieltes Design des Mikroreaktors und eine Anpassung der Reaktionsparameter an die durchzuführende Reaktion können im Idealfall dazu führen, dass die Bildung eines unerwünschten Nebenproduktes vollständig unterdrückt wird.

Die Mikroreaktortechnologie kann aufgrund der extrem hohen Temperaturkontrolle genutzt werden, um sowohl stark endotherme als auch stark exotherme Reaktionen durchzuführen, die konventionelle Batchsysteme an die Grenzen ihrer Leistungsfähigkeit bringen würden.^[40]

Darüber hinaus ermöglichen Mikroreaktoren auch Reaktionen, die so im Batch nicht durchführbar sind.

Beispielsweise können durch extrem schnelles und reproduzierbares Mischen Strukturen (z.B. Polymersome, Niosome,...) durch Selbstorganisation hergestellt werden, für welche dies im Batch nicht möglich ist. Versucht man dieselben Ausgangsstoffe im Batch zu mischen, fallen diese aus, da der Mischvorgang viel zu langsam ist und zu hohe lokale Konzentrationsgradienten auftreten (vergleiche Kapitel 4.2). Auch ist es möglich, bei entsprechender Auslegung der Reaktoren sowie der Gesamtanlage, Reaktionen bei sehr hohen Temperaturen und/oder Drücken, sogar bei überkritischen Bedingungen durchzuführen und sich somit neue Reaktionsfenster zu erschließen.

Mikroreaktoren sind systemisch effizienter und daher auch im Hinblick auf Prozesssicherheit sehr interessant. Aufgrund ihres geringen Innenvolumens befindet sich immer nur eine kleine Menge Chemikalien im Reaktionsraum. Sollte trotz der Parameterkontrolle doch einmal eine Reaktion durchgehen, so ist diese wegen der geringen Volumina deutlich besser wieder in den Griff zu bekommen als bei einem herkömmlichen Batchansatz. Sollte es dazu kommen, dass es zu einem Ausfall der Pumpen oder anderen Unfällen kommt, können keine schwerwiegenden Explosionen auftreten. Durch ein einfaches Pumpen-Stoppssystem kann beispielsweise beim Ausfall eines Kühlsystems innerhalb weniger Sekunden der Reaktor herunter gefahren werden.^[40]

Wurde eine Anlage konzipiert und die optimale Prozessführung etabliert, gibt es zwei unterschiedliche Wege um größere Mengen herzustellen. Zum einen durch ein reines *Numbering-up*, bei dem analoge Aufbauten parallel betrieben werden oder bei ausreichender Kenntnis der Reaktoreigenschaften und Möglichkeiten eines *Scale-ups* unter Beibehaltung der Reaktionsbedingungen ist es auch möglich, Reaktoren in größeren Dimensionen zu fertigen.

Zu den Nachteilen der Mikroreaktortechnologie gehört vor allem die Problematik des Verstopfens. Darüber hinaus stellen Flüssigkeiten mit sehr hoher Viskosität sowie fest/flüssig-Gemische (feine Dispersionen und kolloidale Lösungen) ernst zu nehmende Herausforderungen für das Prozessieren dar und können manchmal nur durch Nutzung größerer Strukturen im Millimeterbereich gelöst werden.

Eine Limitierung für die Nutzung der Mikroprozesstechnik stellt die Kinetik der jeweiligen Reaktion dar, welche ausreichend schnell sein muss, um sinnvoll im kontinuierlichen Fluss abgebildet zu werden.^[40]

2.3.2 Dispergieren durch Einsatz von Mikromischern

Der Vorgang des Dispergierens zählt zu den mehrphasigen Mischprozessen. Dies bedeutet, dass mehrere ineinander unlösliche Komponenten miteinander vermischt werden.^[107]

Mikromischer sind seit über 15 Jahren Bestandteil der Forschung und haben Einzug in eine große Anzahl unterschiedlichster Anwendungsgebiete gehalten.^[116]

Allgemein kann der Prozess des Mischens bei mikrofluidischen Systemen in zwei Arten unterteilt werden: das aktive und das passive Mischen.^[116]

Beim aktiven Mischen erfolgt dazu ein Energieeintrag von einer externen Energiequelle. Einige Beispiele hierfür sind Ultraschall, durch Bläschen induzierte Vibration, periodische Variation der Flussraten oder magnet-induzierte hydrodynamische Bewegung.^[112]

Im Gegensatz dazu wird beim Vorgang des passiven Mischens lediglich die Flussenergie innerhalb des Mixers genutzt. Die drei wesentlichen Prinzipien des passiven Mischens in Mikromischern sind die Multilamination, das SAR-Prinzip (engl. *split and recombine*, dt. aufspalten und wiedervereinen) sowie die Turbulenz. Alle drei Vermischungstypen beruhen letztendlich auf Diffusion. Bei der Multilamination und dem SAR-Prinzip wird mit laminaren Strömungen gearbeitet, bei der Turbulenz hingegen mit turbulenten Strömungen.

Aufgrund der kleinen Volumina, der großen Grenzflächen und der daraus resultierenden hohen Mischkapazität bei geringen Mischzeiten eignen sich Mikromischer besonders für schnell ablaufende Reaktionen, die eine hohe und genaue Reaktionskontrolle erfordern. Zudem ermöglichen Mikromischer eine hervorragende Temperaturkontrolle durch schnelle und effektive Abfuhr der Reaktionswärme. So können unerwünschte Nebenreaktionen reduziert oder sogar unterdrückt werden. Die Kombination des geringen Reaktionsvolumens mit einer sehr guten Wärmeabfuhr erlaubt ein kontrolliertes Durchführen „gefährlicher“ Reaktionen, beispielsweise mit Peroxiden oder elementarem Fluor, bei minimiertem Risiko.^[117,118]

Auch bei mikrostrukturierten Mixern besteht, wie allgemein bei der Mikroverfahrenstechnik, die Gefahr eines Verstopfens der feinen Strukturen.^[114]

Es gibt eine Vielzahl unterschiedlicher Methoden zur Kontaktierung der zu mischenden Phasen, Mischprinzipien und Mischergeometrien.

In Abbildung 23 wird ein schematischer Überblick über unterschiedliche aktive und passive Mischprinzipien gegeben, wobei die in dieser Arbeit verwendeten Mischertypen (Schlitz-Interdigitalmischer, vergleiche Kapitel 2.3.2.2, und Raupenmischer, vergleiche Kapitel 2.3.2.1) farblich hervorgehoben sind.

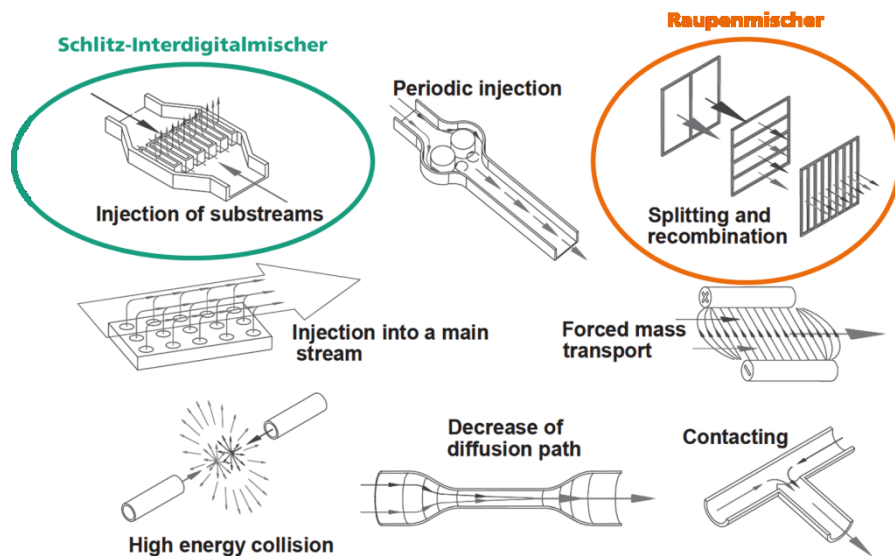


Abbildung 23: Schematische Darstellung unterschiedlicher passiver und aktiver Mischprinzipien von Mikromischern (modifiziert nach ^[13,112,119]). Die beiden in der Arbeit verwendeten Mischertypen sind in der Abbildung farbig markiert: Schlitz-Interdigitalmischer (○) und Raupenmischer (○).

Im Folgenden werden die beiden in dieser Arbeit verwendeten Mischertypen mit Mischprinzip und genauen Spezifikationen beschrieben; dies sind im Einzelnen der Raupenmischer (CPMM-V1.2-R300) und der Schlitz-Interdigitalmischer (SIMM-V2 und SIMM-V4).

2.3.2.1 Raupenmischer

Der Name des Raupenmischers (CPMM, engl.: *caterpillar micro mixer*) lässt sich von seiner inneren, raupenartigen Mischstruktur herleiten (siehe Abbildung 24). Das zu Grunde liegende Mischprinzip ist das SAR-Prinzip (engl. *split and recombine*, dt. aufspalten und wiedervereinen).

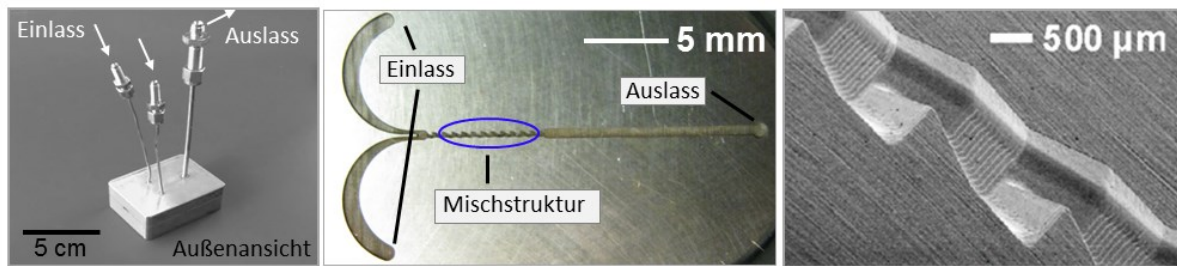


Abbildung 24: Raupenmischer CPMM-V1.2-R600/12. Foto des geschlossenen Mischers mit fluidischen Anschlüssen (links).^[120] Mikroskopische Aufnahme der Mischstruktur mit den beiden Einlässen, den 12 Mischstufen und dem Auslass (Mitte). Mikroskopische Teilaufnahme der Mischstufen (rechts).^[120]

Bei dieser Technik werden Fluidströme aufgespalten und wiedervereint. Dazu werden im einfachsten Fall zwei Flüssigkeiten nebeneinander durch einen Kanal in einem Mikromischer im laminaren Strom zusammengeführt. Dort werden die Ströme aufgrund der speziellen Kanalgeometrie mehrfach getrennt und wieder vereint und so eine sehr große Anzahl sehr dünner Lamellen erhalten (siehe Abbildung 25).

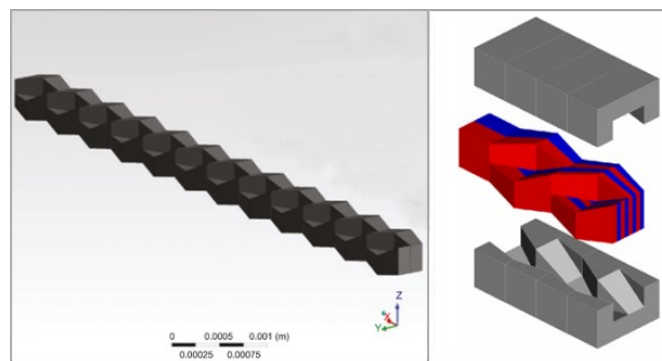


Abbildung 25: Modell der Mischstruktur des Raupenmischers (links) und das theoretische Mischprofil nach dem SAR-Prinzip (engl.: *split and recombine*, dt.: Aufspalten und wiedervereinen) (rechts).

Bei jeder Stufe des Mischens verdoppelt sich die Anzahl der einzelnen Flüssigkeitslamellen, somit ergeben sich nach n-facher Wiederholung 2^n Schichten. Die Durchmischung findet durch Diffusion innerhalb von wenigen Millisekunden zwischen den sehr dünnen Lamellen statt.^[121] Prinzipiell entspricht dieses Prinzip also auch der Multilamination. Eine zusätzliche Vermischung aufgrund von Turbulenzen tritt bei höheren Reynoldszahlen auf, welche bei höheren Flussraten durch die Struktur begünstigt werden.

Neben der relativ einfachen Fertigung der Raupenmischer, zählen zu den weiteren Vorteilen dieser Mikromischer, dass auch Flüssigkeiten mit höherer Viskosität prozessiert werden können und die Strukturen nicht so leicht verstopfen. Daher können mit Raupenmischern sogar Fällungsreaktionen durchgeführt werden.

In den Versuchen, die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden, kam der CPMM-V1.2-R300 zum Einsatz (siehe Kapitel 4.2). Die Spezifikationen dieses Mischers sind in Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 6: Spezifikationen der Raupenmischer CPMM-V1.2-R300 ^[122]

Modellbezeichnung	CPMM-V1.2-R300
Größe (L x B x H) [mm]	60 x 45 x 20
Mischkanalbreite [μm]	300 x 300
Inneres Volumen [μL]	10
Material	Edelstahl 1.4435
Betriebstemperatur [$^{\circ}\text{C}$]	-40 – 220
Druckstabilität [bar]	100
Flussrate [L/h]	0,5 – 4
Verweilzeit [ms]	3,6 – 72
Maximale Viskosität [mPas]	100

2.3.2.2 Schlitz-Interdigitalmischer (SIMM = Slit Interdigital Micro Mixer)

Beim Schlitz-Interdigitalmischer (SIMM = engl. *Slit Interdigital Micro Mixer*) werden zwei Ströme A und B entgegengesetzt in einen Mikromischer eingeleitet und dort in eine definierte Anzahl an Lamellen aufgesplittet. Dies wird durch eine Mehrfachgabelung in einer kammartigen Struktur erreicht. Die so erzeugten Lamellen werden dann mittels einer Schlitzmaske alternierend bzw. interdigital in der sich abwechselnden Reihenfolge A-B-A-B-... zusammengeführt und über einen Schlitz im 90 °-Winkel aus dem Mischer wieder ausgeleitet. Der Schlitz kann durch eine Lochblende weiter verkleinert werden, um eine höhere Fokussierung und damit eine weitere Verringerung der Lamellenbreite aufgrund der räumlichen Verengung zu erreichen. Entsprechend führt diese zusätzliche Fokussierung zu einer Beschleunigung der Vermischung durch Diffusion.^[123–126] Das Funktionsprinzip ist in Abbildung 26 graphisch dargestellt.

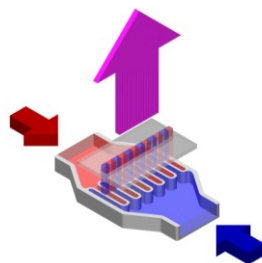


Abbildung 26: Funktionsprinzip des Schlitz-Interdigitalmischers: Zwei entgegen gerichtete Flüssigkeitsströme A und B werden aufgrund der Mikrostruktur des Mischers in eine definierte Anzahl an Lamellen aufgeteilt (interdigital). Bei Austreten durch den Schlitz im rechten Winkel zur Einströmrichtung werden die Lamellen alternierend zusammengeführt.

Um eine gleichmäßige Befüllung der einzelnen Kanäle im Mischer zu gewährleisten, werden die Strukturen so gewählt, dass ein hoher Druckabfall erreicht wird. Der Strom, der sich durch die Zusammenführung der beiden Flüssigkeiten A und B ergibt, zeichnet sich durch die abwechselnde Reihenfolge (A-B-A-B-...) der Schichten aus sowie durch ein hohes Gleichmaß der laminaren Schichten.

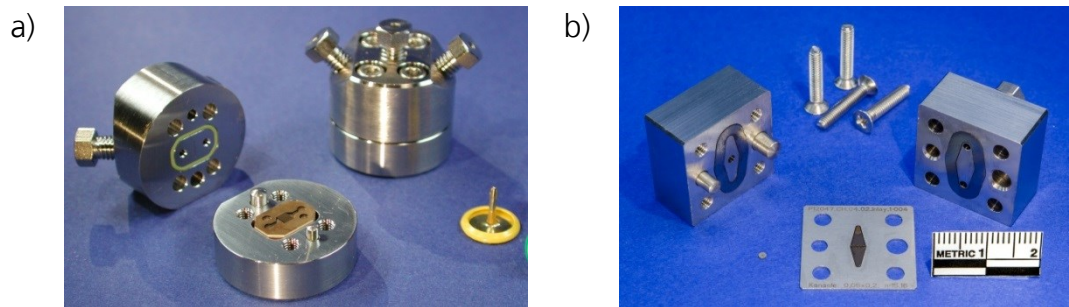


Abbildung 27: Fotos von zwei Modellen des Schlitz-Interdigitalmischers: a) SIMM-V2 und b) SIMM-V4, beide gefertigt am Fraunhofer IMM. Bei beiden Mixern sieht man Ober- und Unterteil des Gehäuses sowie das jeweilige mikrostrukturierte Inlay.

Die genauen Spezifikationen der Modelle SIMM-V2 und SIMM-V4 sind in Tabelle 7 aufgelistet.

Tabelle 7: Spezifikationen der SIMM-V2^[127] und -V4 Mikromischer

Modellbezeichnung	SIMM-V2	SIMM-V4
Größe [mm]	30 x 40 x 30 (L x B x H)	25 x 20 (Ø x H)
Inneres Volumen [μ L]	8	8
Material	Edelstahl 1.4571 (Halter) Edelstahl 1.4435 (Inlay)	Edelstahl 316L
Betriebstemperatur* [$^{\circ}$ C]	-40 – 220	-40 – 500
Druckstabilität* [bar]	Bis zu 100	Bis zu 100
Flussrate [L/h]	0,04 – 2,5	0,04 – 2,5
Verweilzeit [ms]	14,4 – 720	14,4 – 720
Maximale Viskosität* [mPas]	10000	10000

*abhängig vom Anwendungsbereich und dem verwendeten Dichtungsmaterial

Das Modell SIMM-V4 stellt eine Weiterentwicklung des SIMM-V2 dar. Der maßgebliche Unterschied zwischen den beiden Mixern ist, dass sich beim SIMM-V2 die Interdigitalstruktur im Inlay befindet und der Schlitz im Gehäuse; beim SIMM-V4 sind sowohl der Schlitz als auch die Interdigitalstruktur im selben Bauteil, dem Inlay (siehe Abbildung 27, rechtes Bild).

In der vorliegenden Arbeit wurden sowohl der SIMM-V2 als auch der SIMM-V4 Mikromischer verwendet.

2.4 Superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel

Superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel (SPIO = engl. *superparamagnetic iron oxides*) gelten im Allgemeinen als biokompatibel und werden bereits seit den 1990 Jahren für medizinische Anwendungen genutzt^[120] (siehe Kapitel 2.4.6).

SPIO und SPIO-basierte Systeme sind aufgrund ihrer Eigenschaften nicht nur ausschließlich für Therapie oder Diagnostik interessant, sondern auch für eine Kombination aus beidem, der sogenannten Theranostik.^[128,129]

Eisenoxide können in 16 unterschiedlichen Modifikationen vorkommen, welche sich in Oxide, Oxid-Hydroxide und Hydroxide unterteilen lassen.^[130] Die drei am weitesten verbreiteten eisenhaltigen Mineralien sind Magnetit (Fe_3O_4), Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) und Hämatit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$).

2.4.1 Kristallstrukturen von Magnetit und Maghemit und Hämatit

Kristallstrukturen können durch ihr jeweiliges Kristallgitter beschrieben werden. Dieses gibt die dreidimensionale Anordnung von Punkten bzw. den einzelnen Atomen innerhalb eines Kristalls an. Ein Gitter lässt sich in Elementarzellen unterteilen, welche alle Informationen enthalten, die zur Beschreibung des Gitters notwendig sind.

2.4.1.1 Magnetit (Fe_3O_4)

Der Magnetit ist das älteste bekannte magnetische Material. Bereits im Mittelalter war die anziehende Wirkung auf Eisen bekannt und wurde später zur Entwicklung des Kompasses genutzt.^[28]

Magnetit kristallisiert in einer inversen Spinellstruktur mit kubisch-flächenzentrierter Elementarzelle, in welcher die Sauerstoffatome in einer kubisch dichtesten Kugelpackung angeordnet sind.^[116] In den Zwischengitterplätzen befinden sich Eisenkationen mit zwei unterschiedlichen Koordinationen: Während die Tetraederlücken durch Fe^{3+} besetzt werden, werden die Oktaederlücken je zur Hälfte von Fe^{2+} und Fe^{3+} aufgefüllt. Somit lässt sich die Struktur der Einheitszelle durch die inverse Spinellstruktur über die Summenformel $(\text{Fe}^{3+})_8[\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+}]_8\text{O}^{2-}_{32}$ beschreiben; dabei steht () für die tetraedrisch und [] für die oktaedrisch koordinierten Plätze. Eine graphische Visualisierung ist in Abbildung 28 dargestellt.

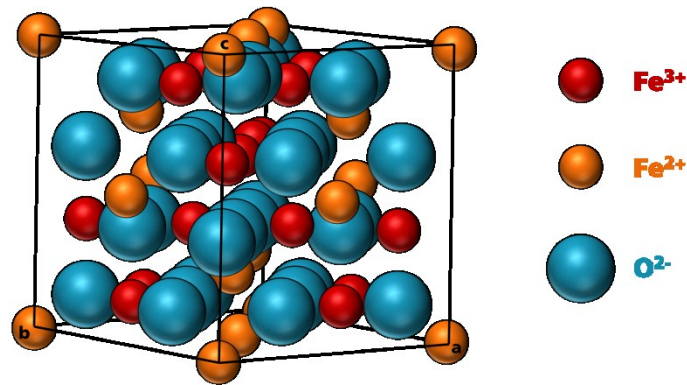


Abbildung 28: Einheitszelle von Magnetit (Fe_3O_4). Dabei symbolisieren ● dreiwertiges Eisen, ● zweiwertiges Eisen und ● Sauerstoff (modifiziert nach ^[28]).

2.4.1.2 Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)

Maghemit als Alterungsprodukt des Magnetits ist als rotbraunes Mineral im Erdboden zu finden. Es tritt auch als Produkt von Heizprozessen anderer Eisenoxide unter Anwesenheit organischer Materialien auf.^[131]

Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) ist im Gegensatz zu Hämatit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) stark magnetisch, obwohl beide die gleiche Zusammensetzung haben (Fe_2O_3). Das liegt daran, dass Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) bis auf die Ausnahme kationischer Fehlstellen isostrukturell zu Magnetit (Fe_3O_4) ist. Die kubische Einheitszelle enthält analog zum Magnetit ebenfalls 32 Sauerstoffionen. Die tetraedrischen Plätze sind – wie auch im Magnetit – mit 8 Eisenkationen besetzt. Die verbleibenden Eisenkationen verteilen sich statistisch auf die übrigen Oktaederlücken. Als Summenformel ergibt sich daraus $(\text{Fe}^{3+})_8 \left[\square_{1/3} \text{Fe}^{3+}_{5/3} \right]_8 \text{O}^{2-}_{32}$; dabei symbolisiert $\square$ die Fehlstellen.

Aufgrund der ähnlichen Struktur erklärt sich auch, wieso Maghemit aus Magnetit entsteht. Bei der Synthese von magnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln tritt oftmals eine Mischung aus den beiden strukturell sehr ähnlichen Varianten Magnetit und Maghemit auf.^[116]

2.4.1.3 Hämatit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$)

Hämatit ist das am längsten bekannte Eisenoxid und sein Name kann aufgrund der typischen rote Farbe auf das griechische Wort „Haime“ ($\alpha\iota\mu\alpha$ = Blut) zurückgeführt werden. Hämatit ist das Endprodukt der Reaktionsketten vieler anderer Eisenoxide und thermodynamisch sehr stabil.^[28] Es kristallisiert in der Korundstruktur^[131] und ist somit isostrukturell zu $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$.^[28]

Die Einheitszelle ist hexagonal und besteht aus Formeleinheiten. Die Struktur enthält verzerrte O_6 -Oktaeder, deren Zentren zu zweidrittel mit jeweils einem Fe^{3+} -Kation besetzt sind. Die Sauerstoffatome bilden in der hexagonalen *ab*-Ebene eine verzerrte hcp-Struktur aus. Dabei kommt es zu einer ABAB Schichtreihenfolge in *c*-Richtung. Die Eisenkationen hingegen weisen honigwabenartige Gitterebenen mit einer Schichtreihenfolge von ABSABS, allerdings ebenfalls in *c*-Richtung ausgerichtet.^[28]

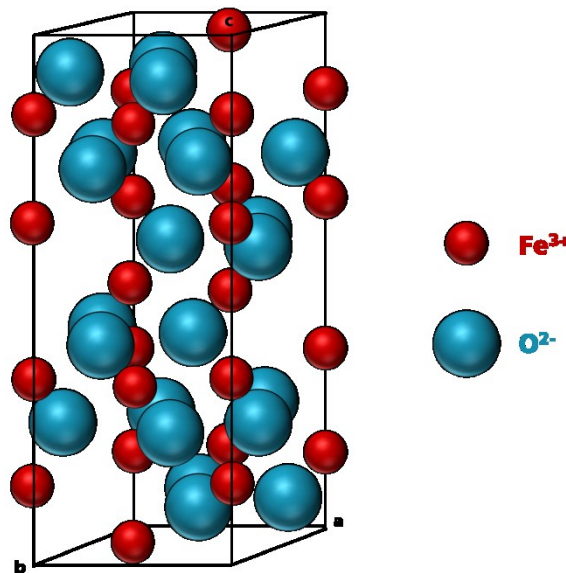


Abbildung 29: Einheitszelle von Hämatit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Dabei symbolisieren ● dreiwertiges Eisen und ● Sauerstoff (modifiziert nach ^[28]).

Hämatit besitzt eine elektronische Anisotropie, da jedes dritte Oktaederzentrum unbesetzt ist. Dies wird dadurch ausgeglichen, dass sich die Eisenkationen von ihrem idealen Oktaederplatz in Richtung der unbesetzten Plätze verschieben.

Hämatit weist ein größen- und temperaturabhängiges komplexes magnetisches Verhalten auf. Nanopartikel mit einem Durchmesser kleiner 20 nm besitzen superparamagnetische Eigenschaften.

Makroskopische Kristalle sind bei Raumtemperatur leicht ferromagnetisch, aber oberhalb ihrer Curie-Temperatur ($T_C = 956 \text{ K}$) zeigen sie paramagnetisches Verhalten.

Abbildung 29 zeigt eine schematische Visualisierung der Einheitszelle von Hämatit.

2.4.2 Synthese

Die drei wichtigsten Methoden zur Herstellung von magnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln sind die Co-Präzipitation, die thermische Zersetzung und die Templat-Synthese. Im Folgenden werden diese Methoden kurz vorgestellt.

2.4.2.1 Co-Präzipitation

Eine einfache und kostengünstige Möglichkeit zur Herstellung von Fe₃O₄-Nanopartikeln ist die Co-Präzipitation von Eisen(II)- und Eisen(III)-Salzen im basischen Medium in der Abwesenheit von Sauerstoff. Dies ist gleichzeitig auch die schnellste der drei vorgestellten Synthesemöglichkeiten mit der Möglichkeit zur Herstellung großer Ansätze. Erstmals wurde das Verfahren unter Nutzung von FeCl₂ und FeCl₃ von Massart et al. 1981 veröffentlicht.



Abbildung 30: Reaktionsgleichung für die Fällung von Eisen(II)- und Eisen(III)-Salzen in wässriger Lösung unter basischen Bedingungen.

Mit dieser Methode erhält man Nanopartikel mit Größen von ca. 2 nm bis hin zu 20 nm in wässriger Dispersion, die allerdings meist relativ breite Größenverteilungen aufweisen.^[132,133]

Die Größe, Form und Komposition der Partikel und damit auch ihre magnetischen Eigenschaften können durch verschiedene Parameter wie z.B. Temperatur, pH-Wert, Ionenstärke der Reaktionslösung, Art und Stöchiometrie der eingesetzten Basen und Eisensalze (Chloride, Nitrate, Sulfate,...) beeinflusst werden.^[120] Auch die verwendeten Stabilisatoren können einen großen Einfluss, sowohl auf die Synthese selbst als auch auf die späteren Eigenschaften unter physiologischen Bedingungen, haben.

2.4.2.2 Thermische Zersetzung

Die thermische Zersetzung oder Thermolyse von *Precursor*-Verbindungen liefert monodisperse Eisenoxid-Partikel im Größenbereich von 3 nm bis 50 nm mit kontrollierter Form (Kugel, Würfel, Stäbchen,...).^[134–136]

Der Prozess wird bei Temperaturen von 100 °C bis hin zu 300 °C durchgeführt und ist daher extrem energieintensiv.^[120]

Bei dieser Methode wird ein Organometall als Vorläufermolekül (= *Precursor*) in hochsiedenden Lösungsmitteln in der Gegenwart von Stabilisatoren zersetzt. Beispiele für solche verwendeten Ausgangsverbindungen sind Eisencarbonyl^[134], Eisenacetylacetonate^[137] und Eisen-Fettsäuresalze^[136,138]. Als Stabilisator wird typischerweise Ölsäure verwendet, aber auch andere langkettige Fettsäuren, Amine und Thiole kommen zum Einsatz.^[120] Damit sind die hergestellten Partikel nach der Synthese hydrophob, können aber über einen anschließenden Ligandenaustausch auch hydrophil stabilisiert werden.

2.4.2.3 Templat-Synthese

Bei der Templat-Synthese wurde 1982 von Inouye^[139] zum ersten Mal beschrieben wie Mikroemulsionen genutzt werden, um auf begrenztem Raum Eisenoxid-Nanopartikel mit kontrollierter Größe herzustellen.^[120]

Die Methode nutzt mizellare Strukturen als Template. Die mizellaren Strukturen bestehen dabei aus Tensiden wie z.B. Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB), Natriumdodecylbenzolsulfonat (SDBS) oder Triton-X 100. Die Größe der Mizellen entspricht der Größe der Reaktionsräume und korrespondiert damit gleichzeitig mit der Größe der resultierenden Partikel. Eine Kontrolle der Größe erfolgt durch die Wahl der Lösungsmittel, der Tenside sowie deren stöchiometrische Zusammensetzung.^[120]

Metalloxide werden meistens durch inverse Emulsionen (Wasser in Öl) synthetisiert.

Da die Ausbeuten gering aber gleichzeitig der Lösungsmittelverbrauch sehr hoch ist, eignet sich dieses Verfahren nicht für großtechnische Anwendungen.^[120]

2.4.3 Grundlagen des Magnetismus

Magnetische Felder lassen sich im Vakuum durch die magnetische Flussdichte oder Induktion B , die Permeabilität im Vakuum μ_0 und die Magnetfeldstärke H beschreiben:^[140]

$$B = \mu_0 H. \quad (23)$$

B : magnetische Flussdichte oder Induktion

μ_0 : Permeabilität im Vakuum

H : Magnetfeldstärke

Wird ein Körper in ein homogenes Magnetfeld gebracht, so resultiert in dessen Inneren eine Induktion B_{innen} . Diese setzt sich zusammen aus der äußeren Flussdichte $B_{\text{außen}}$ und der magnetischen Polarisierung J . Bestandteil der magnetischen Polarisierung J ist die Suszeptibilität χ , welche die Reaktion der Magnetisierung auf ein angelegtes Magnetfeld beschreibt:^[141]

$$B_{\text{innen}} = B_{\text{außen}} + J = B_{\text{außen}} + \chi B_{\text{außen}}. \quad (24)$$

B_{innen} : innere magnetische Flussdichte

$B_{\text{außen}}$: äußere magnetische Flussdichte

J : magnetische Polarisierung

χ : Suszeptibilität

Üblicherweise wird das Verhalten magnetischer Materialien durch die Magnetisierung M beschrieben.^[141] Für die meisten Materialien (Diamagnete und Paramagnete) besteht über die Suszeptibilität χ ein linearer Zusammenhang zwischen der Magnetisierung M und der Magnetfeldstärke H :^[120]

$$M = \chi H. \quad (25)$$

M : Magnetisierung

Die Magnetisierung M ist definiert als das magnetische Moment μ_{mag} pro Volumen V :

$$M = \frac{\mu_{mag}}{V}. \quad (26)$$

μ_{mag} : magnetisches Moment

V : Volumen

Die Suszeptibilität χ kann zur Klassifizierung verschiedener magnetischer Materialien genutzt werden:^[140]

Tabelle 8: Klassifizierung nach diamagnetischen, paramagnetischen und ferromagnetischen Materialien anhand ihrer Suszeptibilität χ .^[141]

Diamagnetische Materialien	$\chi < 0$
Paramagnetische Materialien	$\chi > 0$
Ferromagnetische Materialien	$\chi \gg 0$

Bei diamagnetischen und paramagnetischen Materialien gibt es in Abwesenheit eines Magnetfeldes keine Wechselwirkungen der einzelnen Spins untereinander und die atomaren magnetischen Momente sind daher zufällig verteilt. Daraus ergibt sich, dass der Wert der Magnetisierung null beträgt.^[141]

Bei Ferro-, Ferri- oder Antiferromagneten gibt es jedoch Domänen mit geordneten magnetischen Momenten, die durch Domänenwände voneinander getrennt sind. In diesen, nach dem französischen Physiker Pierre Weiss benannten Weiss'schen Bereichen, sind wegen weitreichenden Spin-Spin-Wechselwirkungen die magnetischen Momente jeweils in dieselbe Richtung gekoppelt. Aufgrund des daraus resultierenden kooperativen und kollektiven Magnetismus folgt eine spontane, von Null verschiedene Magnetisierung des Materials.^[120]

Die Magnetisierung ist temperaturabhängig. Dies bedeutet, je höher die Temperatur ist, desto mehr Fluktuation findet statt und damit sinkt der Wert der spontanen Magnetisierung.^[120]

Ferromagnetische Materialien besitzen unterhalb einer spezifischen charakteristischen Temperatur, der sogenannten Curie-Temperatur T_C , Domänen mit jeweils homogener Magnetisierung, die Weiss'schen Bereiche.^[120]

Je nach Material ist die Spinordnung unterhalb der Curie-Temperatur in den Weiss'schen Bereichen unterschiedlich (siehe Abbildung 31): bei ferromagnetischen Materialien ist die Spinanordnung, wie bereits beschrieben, parallel, eine antiparallele Ausrichtung der Spins findet man bei antiferromagnetischen Materialien und bei ferrimagnetischen Materialien liegt eine antiparallele Kopplung verschieden großer Spinmomente vor.^[120] Abbildung 31 fasst diese Unterschiede zusammen und stellt sie schematisch dar.

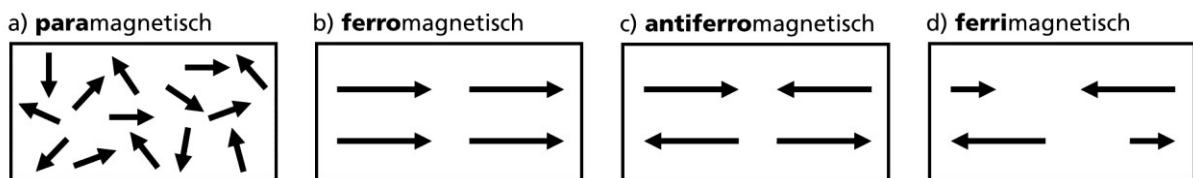


Abbildung 31: Schematische Darstellung verschiedener Spin-Orientierungen als Modelle für die Phänomene des kooperativen Magnetismus bei (a) para-, (b) ferro-, (c) antiferro- und (d) ferrimagnetischen Materialien (modifiziert nach ^[142]).

2.4.4 Superparamagnetismus

Im Allgemeinen liegen größere Partikel aus ferro- oder ferrimagnetischen Materialien als Mehrdomänenteilchen vor.^[120]

Unterhalb einer kritischen Größe, die in der Größenordnung der Weiss'schen Bereiche liegt, sind alle Elektronenspins innerhalb dieses Partikels einheitlich ausgerichtet und es handelt sich somit um einen Eindomänenpartikel (siehe Abbildung 32). Diese Partikelgröße ist materialspezifisch und liegt normalerweise im Größenbereich von einigen 10 nm.^[143]

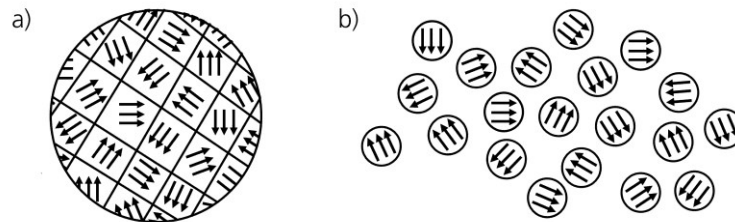


Abbildung 32: Schematische Darstellung magnetischer Domänen in a) ferromagnetischen und b) superparamagnetischen Nanopartikeln. a) Bei ferromagnetischen Materialien sind in Abwesenheit eines Magnetfeldes die magnetischen Ausrichtungen der einzelnen Weiss'schen Bereiche statistisch verteilt.

b) Wird eine kritische Größe unterschritten – welche etwa in der Größenordnung der Weiss'schen Bereiche liegt – sind alle Elektronenspins innerhalb dieses Partikels einheitlich ausgerichtet und es liegen superparamagnetische Eindomänenpartikel vor (modifiziert nach ^[36,144,145]).

Abbildung 33 veranschaulicht, dass bei superparamagnetischen Teilchen in der Abwesenheit eines Magnetfeldes der magnetische Moment des Gesamtsystems Null beträgt, da die Spinausrichtung zwar innerhalb der Partikel einheitlich ist, aber über alle Partikel hinweg statisch verteilt vorliegt. Setzt man das System einem Magnetfeld aus, kommt es zu einer Ausrichtung der magnetischen Momente der Partikel.

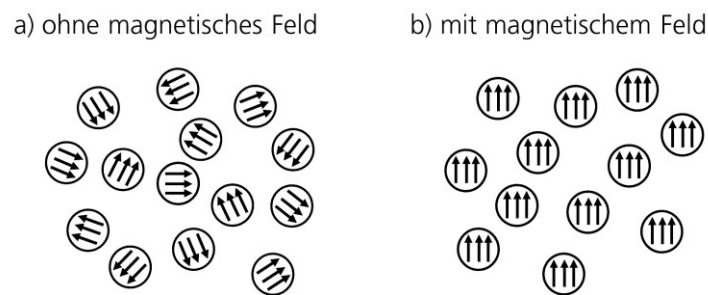


Abbildung 33: Schematische Darstellung superparamagnetischer Partikel und ihres Verhaltens ohne und mit magnetischem Feld. a) Obwohl die magnetischen Momente innerhalb jedes einzelnen Partikels geordnet vorliegen ($\uparrow$), ist der magnetische Moment des Gesamtsystems, welches die Partikel enthält, Null bei ausreichend hohen Temperaturen in der Abwesenheit eines Magnetfelds. b) Wird das System jedoch einem Magnetfeld ausgesetzt, kommt es zu einer statistischen Ausrichtung der magnetischen Momente der Partikel (modifiziert nach ^[146]).

In Abbildung 34 werden die Übergänge in Abwesenheit und bei Aussetzen in einem Magnetfeld bei ferromagnetischem und superparamagnetischem Verhalten in Abhängigkeit von der Partikelgröße veranschaulicht und erläutert.

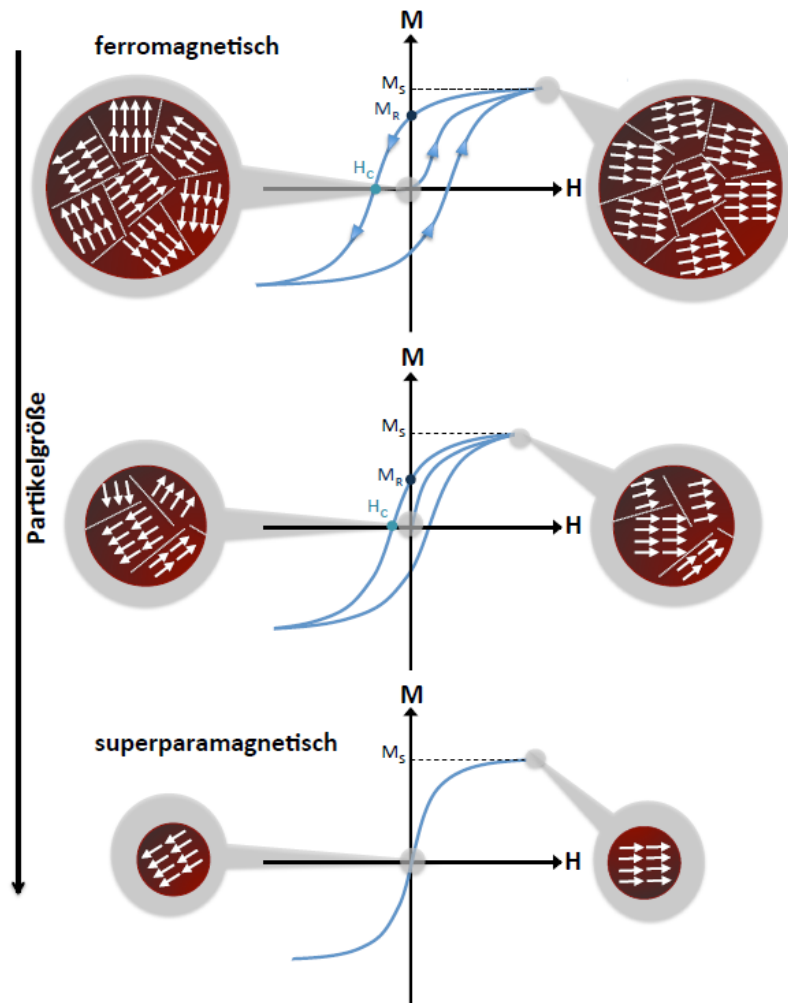


Abbildung 34: Schematische Darstellung der Übergänge bei ferromagnetischem und superparamagnetischem Verhalten in Abhängigkeit von der Partikelgröße (in Anlehnung an Cademartiri et al.^[147]). Ferro- und ferrimagnetische Materialien zeigen eine Hysterese-Kurve. Wenn ein Magnetfeld mit der Feldstärke H angelegt wird, kommt es zur Ausrichtung der Spins in den einzelnen Weiss'schen Bereichen. Mit zunehmender Feldstärke wächst die Magnetisierung M solange an bis eine maximale Spin-Ausrichtung sowie die Sättigungsmagnetisierung M_s erreicht ist. Wird anschließend die Feldstärke wieder verringert, bleibt eine remanente Magnetisierung M_R , da die Spins der Weiss'schen Bereiche nicht vollständig in ihre ursprüngliche Orientierung zurückkehren. Um dies zu erreichen ist es notwendig, ein Feld H_C (Koerzitivfeldstärke) in umgekehrter Richtung anzulegen und so wieder eine vollständige Entmagnetisierung zu erreichen. Superparamagnetisches Verhalten tritt ein, wenn diese ferro- oder ferrimagnetischen Materialien Partikelgrößen haben, die kleiner sind als die eines einzelnen Weiss'schen Bereichs. Das Besondere an der superparamagnetischen Magnetisierungskurve ist, dass es keine Hysterese gibt und somit keine remanente Magnetisierung M_R und auch keine Koerzitivfeldstärke H_C . Wird allerdings die Blocking-Temperatur T_B unterschritten, kehrt das ferro- bzw. ferrimagnetische Verhalten des Materials zurück.^[120]

Bei magnetischen Momenten kommt es aufgrund der magnetischen Anisotropie dazu, dass sie sich bevorzugt in eine bestimmte Richtung orientieren (lokales Energieminimum).^[120] Somit kann es auch bei Eindomänenpartikeln zu einer remanenten Magnetisierung kommen.^[148]

Eine spontane Umkehrung der Magnetisierung von ausreichend kleinen Partikeln kann thermisch induziert werden, wodurch sie in die Lage versetzt werden, die Energiebarriere (Anisotropieenergie) zu überwinden. Dieses Phänomen wird als superparamagnetische Relaxation bezeichnet.^[120] Die Definition dieser Zeitkonstante, der Néel'schen Relaxationszeit τ_N , lautet:

$$\tau_N = \tau_0 \exp\left(\frac{KV_C}{k_B T}\right). \quad (27)$$

τ_N : Néel'sche Relaxationszeit

K : Anisotropiekonstante des Materials (Anisotropieenergie $A_E = KV_C$)

V_C : Volumen des magnetischen Kerns

k_B : Boltzmann Konstante

T : absolute Temperatur

Eine Neuorientierung der magnetischen Momente kann alleine durch Rotation erfolgen, wenn die Partikel in einem flüssigen Medium dispergiert vorliegen. Die dafür benötigte Zeitkonstante ist die Brown'sche Relaxationszeit τ_B . Diese steht in einer Abhängigkeit von den hydrodynamischen Eigenschaften der entsprechenden Partikel V_h und der dynamischen Viskosität des Mediums η hat. Formel (28) zeigt diesen Zusammenhang:

$$\tau_B = \frac{3\eta V_h}{k_B T}. \quad (28)$$

τ_B : Brown'sche Relaxationszeit

η : dynamische Viskosität des Mediums

V_h : hydrodynamisches Volumen

In flüssiger Phase kommt es zu einer Konkurrenz zwischen den beiden Mechanismen der Néel'schen Relaxationszeit τ_N und der Brown'schen Relaxationszeit τ_B , wobei der schnellere Prozess dominiert.^[149] Die effektive Zeitkonstante τ_{eff} ist der Kehrwert aus der Summe der Kehrwerte der Néel'schen Relaxationszeit τ_N und der Brown'schen Relaxationszeit τ_B :

$$\frac{1}{\tau_{eff}} = \frac{1}{\tau_N} + \frac{1}{\tau_B}. \quad (29)$$

τ_{eff} : effektive Zeitkonstante

Die Gleichungen (27) und (28) zeigen, dass die unterschiedlichen Zeitkonstanten in unterschiedlicher Weise von der Größe der Partikel abhängig sind. Mit steigendem Partikelvolumen wächst die Néel'sche Relaxationszeit τ_N aufgrund der Exponentialfunktion extrem stark. So ist für die effektive Zeitkonstante τ_{eff} bei großen Partikeln die Brown'sche Relaxationszeit τ_B nahezu alleine relevant. Für kleine Partikel ist der Magnetisierungsvektor hingegen so beweglich, dass Superparamagnetismus nach Néel sogar für immobilisierte Partikel gegeben ist.^[149] Diese Abhängigkeit der effektiven Zeitkonstante τ_{eff} von den beiden unterschiedlichen Mechanismen, in Abhängigkeit von der Partikelgröße, wird in Abbildung 35 graphisch veranschaulicht.

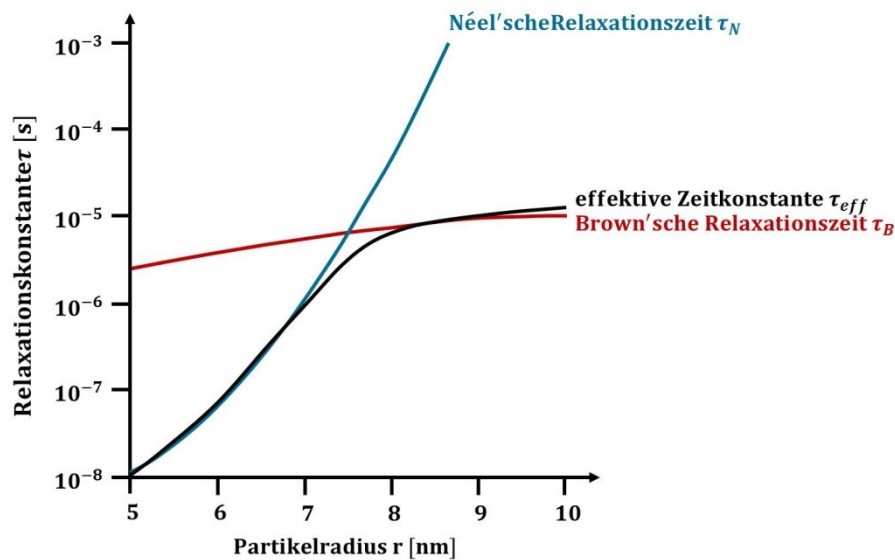


Abbildung 35: Abhängigkeit der Zeitkonstanten τ von dem Partikelradius r für Magnetit-Nanopartikel (modifiziert nach ^[149]).

In Abwesenheit eines magnetischen Feldes verhalten sich superparamagnetische Teilchen analog zu paramagnetischen Materialien, besitzen jedoch eine wesentlich höhere Suszeptibilität. Eine Besonderheit superparamagnetischer Teilchen ist, dass sie – im Gegensatz zu ferromagnetischen Materialien – keine Hysterese zeigen. Dies bedeutet, dass ihre Magnetisierung vollständig reversibel ist und keine Remanenz zurückbleibt wie dies hingegen bei Ferromagneten der Fall ist. Unterhalb der *Blocking*-Temperatur reicht die Energie nicht aus, um eine Änderung der Magnetisierungsrichtung der superparamagnetischen Partikel zu induzieren und es dominiert ferromagnetisches Verhalten.^[120]

2.4.5 Ferrofluid

Ferrofluide sind stabile Dispersionen ultrafeiner magnetischer Partikel oder verkapselter magnetischer Partikel in einem organischen oder wässrigen Medium.^[150] Sie sind superparamagnetisch und besitzen eine sehr geringe Hysterese.

Ferrofluide werden bereits für die unterschiedlichsten Anwendungen eingesetzt. Dies sind zum Beispiel magnetische Tinten, Schmiermittel oder Wellendichtungen. Da sie im Magnetfeld ihre Viskosität ändern, können sie als Schwingungsdämpfer in Stoßdämpfern oder in Lautsprechern genutzt werden.^[151]

Die magnetischen Partikel im Ferrofluid werden durch ein Tensid stabilisiert. Dies dient dazu, ein Agglomerieren oder Sedimentieren zu verhindern.^[150] Wenn die Partikel einem magnetischen Feld ausgesetzt werden, sollen sie dennoch weiterhin gleichmäßig, einzeln dispergiert im Trägermedium vorliegen.^[150]

Die in dieser Arbeit verwendeten magnetischen Eisenoxid-Nanopartikel wurden als sogenanntes Ferrofluid gekauft (Ferrofluid, Webcraft GmbH, Gottmadingen, Deutschland). Das Ferrofluid besteht zu etwa 80 % aus Eisenoxid-Partikeln, welche in Mineralöl gelöst vorliegen. Die Magnetit-Partikel wurden durch basische Fällung von Fe^{2+} - und Fe^{3+} -Salzen synthetisiert. Stabilisiert werden die Partikel mit einem Durchmesser von 5 nm bis 10 nm durch hydrophobe Ölsäure.^[116]

2.4.6 Magnetische Nanopartikel in der Medizin

Es gibt bereits eine Vielzahl von Anwendungen für magnetische Nanopartikel in der Medizin. Sie finden Einsatz in der Magnetresonanztomographie (=MRT), der Hyperthermie und werden sowohl zur Zellseparation als auch als Transportsysteme für medizinische Wirkstoffe genutzt.^[152] Magnetische Nanopartikel können aufgrund ihrer geringen Größe in Zellen aufgenommen werden und sogar so modifiziert werden, dass sie in der Lage sind die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden.^[153]

In der Regel werden superparamagnetische Magnetit-Nanopartikel (Fe_3O_4) für medizinische Anwendungen eingesetzt. Diese haben den großen Vorteil, dass sie aufgrund ihrer superparamagnetischen Eigenschaften, nach Ausschalten des Magnetfeldes, keine Restmagnetisierung mehr besitzen, was zu einer Aggregation führen könnte. Allgemein ist es sehr wichtig, dass die verwendeten Partikel nicht agglomerieren, da sonst nicht nur ihre Verbreitung innerhalb des Körpers eingeschränkt würde, sondern es sogar zu Blockaden des Blutfluss führen könnte. Daher ist es unbedingt notwendig, eine stabile Dispersion der Partikel zu gewährleisten.

Ist dies gegeben, können die magnetischen Nanopartikel entweder intravenös verabreicht oder in das Gewebe injiziert werden.^[154]

3 CHARAKTERISIERUNGSMETHODEN

Zur Untersuchung makroskopischer Proben sind unterschiedlichste Methoden etabliert; darüber hinaus haben Einzelmolekülmethoden in den letzten drei Jahrzehnten erhebliche Bedeutung erlangt. Auch die Charakterisierung nanoskaliger Materialien und Kolloide hat eine mindestens einhundertjährige Geschichte, stellt aber aufgrund der Vielzahl an Parametern und der geringen Größe immer noch eine Herausforderung dar.

Die Aufklärung von Struktur und Eigenschaften nanoskaliger Objekte ist aufgrund der steigenden Anzahl an neuen Materialien und Funktionen von wachsendem Interesse, wobei sich auch das methodische Repertoire vergrößert.

Eine Charakterisierung in Lösung ist zum Beispiel über Streumethoden wie der Lichtstreuung (LS), die Röntgendiffraktion (SAXS) oder Kleinwinkelneutronenstreuung (SANS) möglich oder aber über Fraktionierung mit Hilfe der Gel-Permeations-Chromatographie (GPC), der Ultrazentrifugation oder der Feld-Fluss-Fraktionierung (FFF). Darüber hinaus gibt es noch abbildende Methoden zu denen u.a. die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM), Rasterelektronenmikroskop (REM) und die Rasterkraftmikroskop (AFM) zählen.

Die Vorteile der Charakterisierung in Lösung liegen darin, dass die Analyse in dem Medium erfolgt, in dem die Partikel nach der Darstellung vorliegen oder für eine nachfolgende Anwendung überführt werden, und somit die Umgebungseinflüsse berücksichtigt werden. Darüber hinaus erhält man eine gute Statistik über eine große Anzahl an Teilchen, aber eben nur Mittelwerte.

Ein Nachteil dieser Methoden ist die Komplexität der Datenauswertung und die nicht immer eindeutig zu interpretierenden Daten.

Bei den bildgebenden Methoden hingegen erhält man zwar eine direkte Strukturabbildung; allerdings können aufgrund der Probenpräparation (z.B. Trocknen) Artefakte auftreten. Zudem wird pro Bild immer nur eine begrenzte Anzahl an Partikeln abgebildet.

Um Nanostrukturen möglichst genau zu charakterisieren, ist eine sich ergänzende Kombination mehrerer Methoden empfehlenswert.

3.1 Lichtstreuung

Die Lichtstreuung stellt eine wichtige Methode zur zerstörungsfreien Charakterisierung von gelösten Makromolekülen dar und liefert Informationen zu den statischen und dynamischen Eigenschaften.^[155] Darüber hinaus ist die Lichtstreuung eine Absolutmethode und benötigt somit keine Eichung.

Der allgemeine Aufbau einer Lichtstreuapparat ist in Abbildung 36 dargestellt.

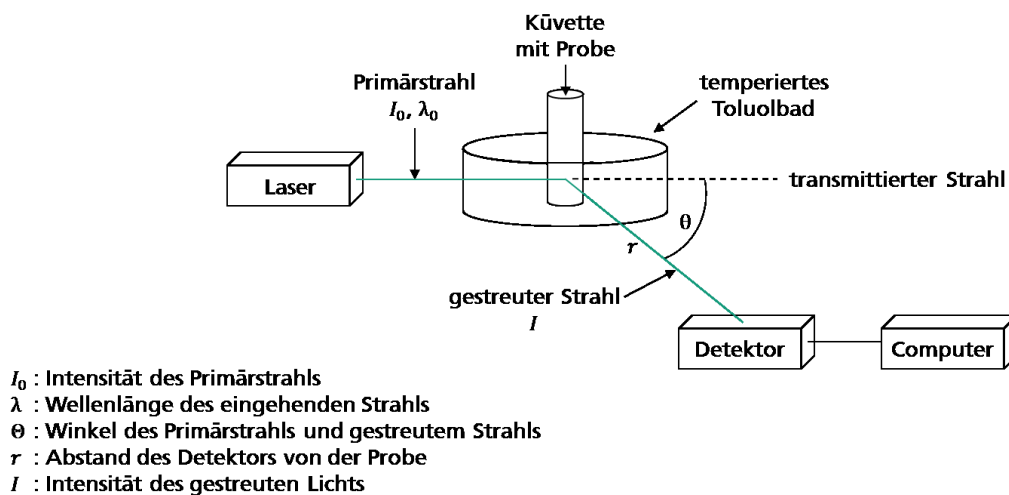


Abbildung 36: Schematische Darstellung einer Lichtstreuapparat.

Bei der statischen Lichtstreuung (SLS) wird über ein längeres Zeitintervall hinweg winkelabhängig die gemittelte Streuintensität beobachtet. Daraus lassen sich das Gewichtsmittel M_w , das z-Mittel des Trägheitsradienquadrats $\langle R_g^2 \rangle_z$ und der zweite Virialkoeffizient des osmotischen Drucks A_2 bestimmen. Dieser zweite Virialkoeffizient des osmotischen Drucks A_2 ist ein Maß für die intra- und intermolekularen thermodynamischen Wechselwirkungen zwischen dem gelösten Polymer und dem Lösungsmittel. Für hinreichend große Moleküle können über die Winkelabhängigkeit des Streulichts Aussagen über Form des Makromoleküls getroffen werden.

Mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung (DLS) wird die zeitliche Fluktuation der Streuintensität gemessen und damit indirekt die Brown'sche Molekularbewegung beobachtet. Darüber kann dann mit der Stokes-Einstein-Beziehung über das z-Mittel des Diffusionskoeffizienten D_z der kugeläquivalente hydrodynamische Radius R_h ermittelt werden.

3.1.1 Statische Lichtstreuung

Bei der statischen Lichtstreuung wird die zeitlich gemittelte Streuintensität winkelabhängig gemessen. Anhand dieser Daten kann sowohl das Gewichtsmittel der Molmasse M_w , das z-Mittel des Trägheitsradienquadrats $\langle R_g^2 \rangle_z$ sowie der zweite Virialkoeffizient des osmotischen Drucks A_2 bestimmt werden.

Durch das fluktuierende, elektrische Feld des Primärstrahls werden oszillierende Dipole in den Elektronenhüllen der Moleküle induziert. Diese emittieren dann ihrerseits, da sie aufgrund der Schwingung des elektrischen Feldvektors der elektromagnetischen Strahlung ebenfalls schwingen, selber elektromagnetische Strahlung als ungerichtetes Streulicht. Dabei stimmt der überwiegende Anteil dieser Sekundärstrahlung in Frequenz und Phase mit der Primärstrahlung überein.^[29]

Mit der Maxwell'schen Theorie der Elektrodynamik leitete Lord Rayleigh die fundamentale Gleichung zur statischen Lichtstreuung theoretisch ab. Dabei zeigte er, dass die Streuintensität idealer Gase von der Teilchenzahl, der Wellenlänge des Lichts, dem Beobachtungswinkel und der Polarisierbarkeit abhängt.^[156] Smoluchowsky^[157] und Einstein^[158] erweitern dies zur Fluktuationstheorie, in welcher Konzentrations- und Dichteschwankungen für die Streuung von Licht berücksichtigt werden. Diese werden von der thermischen Bewegung des Streumediums hervorgerufen, was schlussendlich Schwankungen im Brechungsindex zur Folge hat. Die Theorie kann dadurch nun auch auf Lösungen angewendet werden. Allerdings tragen nur Volumenelemente zur Streuung bei, deren Brechungsindex verschieden ist von dem der Umgebung. Debye^[159] erweiterte die Theorie auf Makromoleküle, bei denen deren Dimension gegenüber der Wellenlänge des Lichts nicht mehr vernachlässigt werden durfte.

Für Lösungen kleiner Teilchen (Trägheitsradius < 10 nm), so genannten Punktstreuern, deren Streuzentren im Molekül so nahe beieinander liegen, dass nur konstruktive Interferenz auftritt, ergibt sich folgendes Rayleigh-Verhältnis:

$$R(\theta) = \frac{Ir^2}{I_0} = \frac{4\pi^2}{\lambda_0^4 N_L} \left[\rho n_0^2 \left(\frac{dn}{d\rho} \right)^2 RT\beta + \left(n_0 \frac{dn}{dc} \right)^2 \frac{RTM_0c}{\rho_0 \left(\frac{-d\Delta\mu}{dc} \right)} \right]. \quad (30)$$

$R(\theta)$: Rayleigh – Verhältnis

I_0, I : Intensität des Primärstrahls, Intensität des Streustrahls

r : Abstand des Streuvolumens zum Detektor

λ_0 : Wellenlänge des Primärstrahls

N_L : Avogadro – Konstante

ρ, ρ_0 : Dichte der Lösung, Dichte des Lösungsmittels

n, n_0 : Brechungsindex der Lösung, Brechungsindex des Lösungsmittels

R : ideale Gaskonstante

T : absolute Temperatur

β : isotherme Kompressibilität

M_0 : Molmasse des Lösungsmittels

$\Delta\mu$: Differenz der chemischen Potentiale von Lösung zu Lösungsmittel

c : Konzentration der Probe

$\left(\frac{dn}{d\rho} \right)$: Brechungsindexinkrement nach der Dichte

$\left(\frac{dn}{dc} \right)$: Brechungsindexinkrement nach der Konzentration

Der erste Summand der Gleichung (30) beschreibt den Anteil der Dichtefluktuations des Lösungsmittels und der zweite Summand den Beitrag der Konzentrationsschwankungen zur Streuintensität.

Für verdünnte Lösungen kann näherungsweise angenommen werden, dass die Dichteschwankungen des reinen Lösungsmittels gleich sind zu denen der Lösung. Daraus ergibt sich folgende Gleichung:

$$R(\theta) = \frac{4\pi^2 n_0^2}{\lambda_0^4 N_L} \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 \frac{RTM_0c}{\rho_0 \left(\frac{-d\Delta\mu}{dc} \right)}. \quad (31)$$

Experimentell erfolgt eine Kalibrierung der Lichtstreuanlage über die absolute Streuintensität eines bekannten Standards (z.B. Toluol).

Daraus ergibt sich für das Rayleigh-Verhältnis folgender Zusammenhang:

$$R(\theta) = (I_{\text{Lösung}} - I_{\text{Lösungsmittel}}) \frac{r^2}{V} \quad (32)$$

$$= \frac{I(\theta)_{\text{Lösung}} - I(\theta)_{\text{Lösungsmittel}}}{I(\theta)_{\text{Standard}}} I(\theta)_{\text{Standard, absolut}}$$

V : Größe des Streuvolumens

I : Intensität

Die konzentrationsabhängige Änderung des chemischen Potentials lässt sich durch die konzentrationsabhängige Änderung des osmotischen Drucks beschreiben.

Stellt man diesen durch eine Entwicklung in einer Virialreihe nach der Konzentration dar, ergibt sich daraus folgende Gleichung:

$$-\left(\frac{d\Delta\mu}{dc}\right) = \frac{M_0}{\rho_0} \left(\frac{d\Pi}{dc}\right) = \frac{M_0}{\rho_0} RT \left(\frac{1}{M} + 2A_2c + 3A_3c^2 + \dots\right). \quad (33)$$

A_2, A_3 : 2. bzw. 3. Virialkoeffizient des osmotischen Drucks

M : Molekulargewicht der gelösten Probe

Π : osmotischer Druck

Wird diese Gleichung (33) nach dem zweiten Virialkoeffizienten abgebrochen und in Gleichung (31) eingesetzt, erhält man nach Umformen:

$$\frac{Kc}{R} = \frac{1}{M} + 2A_2c. \quad (34)$$

$$\text{mit } K = \frac{4\pi^2 n_0^2}{\lambda_0^4 N_L} \left(\frac{dn}{dc}\right)^2$$

A_2, A_3 : 2. bzw. 3. Virialkoeffizient des osmotischen Drucks

Teilchen mit einem Trägheitsradius > 10 nm besitzen mehrere Streuzentren innerhalb des einen Moleküls.

Durch Einführung des Partikelformfaktors wird die Winkelabhängigkeit der Streuintensität durch das Auftreten intramolekularer Interferenz berücksichtigt:

$$\frac{Kc}{R} = \frac{1}{MP_{(q)}} + 2A_2c.$$

$$\text{mit } P_{(q)} = \frac{1}{N^2} \sum_i^N \sum_j^N \langle \exp(iqr_{ij}) \rangle \quad (35)$$

$$\text{mit } q = |q| = \frac{4\pi}{\lambda_0} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)$$

$P_{(q)}$: Partikelformfaktor

q : Streuvektor

r_{ij} : Abstandsvektor der Streuzentren i und j

N : Anzahl der Streuwinkel

θ : Streuwinkel

Für kleine q liefert eine Taylorentwicklung des Partikelformfaktors folgenden Zusammenhang:

$$P_{(q)} = 1 - \frac{q^2}{3!N^2} \sum_i^N \sum_j^N \langle r_{ij}^2 \rangle + \dots \quad (36)$$

Das Trägheitsradienquadrat ist definiert als der mittlere Abstand aller Polymersegmente vom Schwerpunkt des Moleküls; für dieses gilt:

$$\langle R_g^2 \rangle = \frac{1}{N} \sum_i^N \langle r_i^2 \rangle = \frac{1}{2N^2} \sum_i^N \sum_j^N \langle r_{ij}^2 \rangle. \quad (37)$$

$\langle R_g^2 \rangle$: Trägheitsradienquadrat

Setzt man diesen Zusammenhang in Gleichung (36) ein, ergibt sich daraus:

$$P_{(q)} = 1 - \frac{1}{3} q^2 \langle R_g^2 \rangle + \dots \quad (38)$$

Dies gilt allerdings nur für monodisperse Proben.

Bei Berücksichtigung der Polydispersität von Polymeren ergibt sich für das Trägheitsradienquadrat:

$$\langle R_g^2 \rangle_z = \frac{\sum_i m_i M_i \langle R_g^2 \rangle_i}{\sum_i m_i M_i} . \quad (39)$$

Daraus resultiert für den Partikelformfaktor:

$$P_{(q)} = 1 - \frac{1}{3} q^2 \langle R_g^2 \rangle_z + \dots . \quad (40)$$

Nutzt man für $\frac{1}{3} q^2 \langle R_g^2 \rangle_z + \dots = x$ ergibt sich daraus folgende Beziehung:

$$1 - x = \frac{1}{1 + x} . \quad (41)$$

Nutzt man nun diese Beziehung aus Gleichung (41) um Gleichung (40) in Gleichung (35) einzusetzen, erhält man die Zimm-Gleichung für polydisperse Systeme:

$$\frac{Kc}{R(\theta)} = \frac{1}{M_w} \left(1 + \frac{1}{3} q^2 \langle R_g^2 \rangle_z \right) + 2A_2 c . \quad (42)$$

Durch Auftragung von $\frac{Kc}{R(\theta)}$ gegen $q^2 + kc$ in Form des Zimm-Plots (siehe Abbildung 37), wobei k eine passend zu wählende Skalierungskonstante darstellt, erhält man durch Extrapolation von $c \rightarrow 0$ das Gewichtsmittel der Molmasse M_w sowie das z-Mittel des Trägheitsradienquadrats $\langle R_g^2 \rangle_z$.

Die Extrapolation $q \rightarrow 0$ liefert ebenfalls das Gewichtsmittel der Molmasse M_w und zudem noch den zweiten Virialkoeffizienten des osmotischen Drucks A_2 .

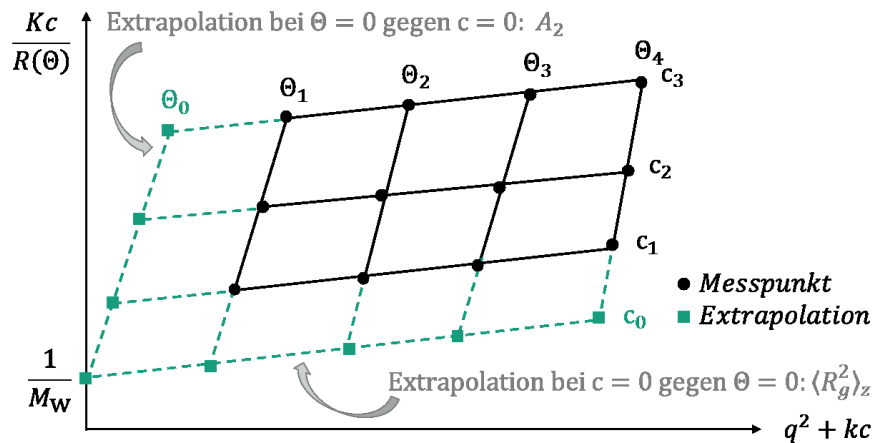


Abbildung 37: Zimm-Plot: • symbolisieren die gemessenen Daten aus einem Lichtstreu-Experiment, ■ extrapolierte Werte für $c \rightarrow 0$ bzw. $q \rightarrow 0$. Der gemeinsame Schnittpunkt im y-Achsenabschnitt ergibt $1/M_w$. Aus den Steigungen der Geraden lassen sich A_2 und $\langle R_g^2 \rangle_z$ ermitteln.

3.1.2 Dynamische Lichtstreuung

Bei der dynamischen Lichtstreuung (DLS) wird im Gegensatz zur statischen Lichtstreuung (SLS) nicht die gemittelte Streuintensität gemessen, sondern die zeitliche Fluktuation der Streuintensität und dadurch indirekt die Brown'sche Molekularbewegung erfasst. Damit kann über die Stokes-Einstein-Beziehung das z-Mittel des Diffusionskoeffizienten D_z bestimmt werden und darüber der kugeläquivalente hydrodynamische Radius R_h berechnet werden.

Aufgrund der Brown'schen Molekularbewegung können die Teilchen im Lösungsmittel frei diffundieren. Dadurch kommt es zu permanenten Änderungen der Interferenz zwischen den Streustrahlen und damit auch der Gesamtintensität.

Anhand dieser Fluktuation kann die Intensitätskorrelationsfunktion g_2 berechnet werden. Dazu wird die Intensität zum Zeitpunkt 0 mit der zum Zeitpunkt t multipliziert. Nach vielfacher Wiederholung dieser Operation und der Mittelung über die gesamte Messzeit, erhält man für monodisperse Proben eine durch Auftragung von $g_2(t)$ gegen t exponentiell abfallende Kurve als Autokorrelationsfunktion (siehe Abbildung 38), die mit Hilfe eines Hardwarekorrelators experimentell gemessen wird.

Je kleiner ein Teilchen ist, desto schneller diffundiert es. Damit kommt es zu einer schnelleren Fluktuation der Streuintensität und so zu einem steileren Abfall der Kurve der Korrelationsfunktion.

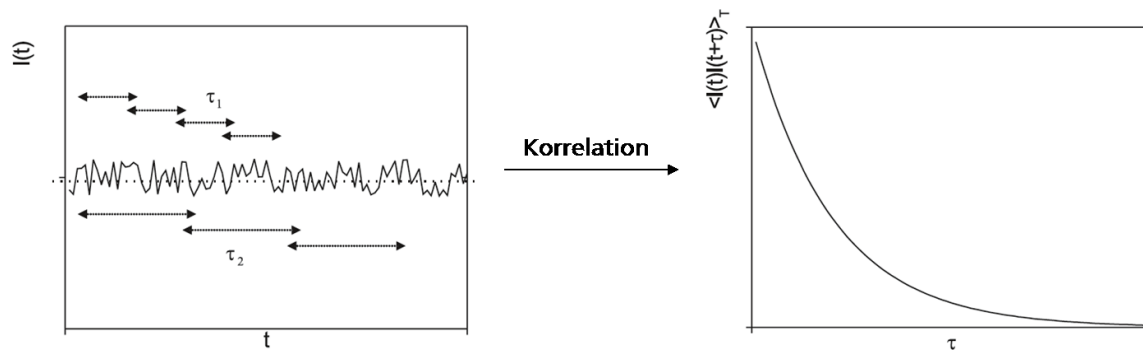


Abbildung 38: Fluktuierende Streuintensität $I(t)$ und Autokorrelationsfunktion $g_2(t)$ (modifiziert nach ^[160]).

$$g_2(t) = \langle I(0) \cdot I(t) \rangle. \quad (43)$$

$I(0)$: Streuamplitude zum Zeitpunkt 0

$I(t)$: Streuamplitude zum Zeitpunkt t

t : Zeitabstände der Kanäle des Autokorrelators

$\langle \rangle$: zeitliches Mittel

Um $g_2(t)$ in die Autokorrelationsfunktion des Streufelds $g_1(t)$ zu überführen, wird die Siegert-Relation verwendet. Diese ist definiert als der Quotient aus dem dynamischen und dem statischen Strukturfaktor:^[161]

$$g_1(t) = \frac{S(q, t)}{S(q)} = \sqrt{\frac{g_2(t) - A}{A}}. \quad (44)$$

$S(q, t)$: dynamischer Strukturfaktor

$S(q)$: statischer Strukturfaktor

A : experimentell bestimmte Basislinie

Für kleine, monodisperse Teilchen kann $g_1(t)$ als exponentiell abfallende Funktion ausgedrückt werden:

$$g_1(t) = B \cdot \exp(-q^2 Dt). \quad (45)$$

B : Signal – Rausch – Verhältnis

D : translatorischer Diffusionskoeffizient

Für eine polydisperse Probe muss $g_1(t)$ als z-Mittel der Exponentialfunktionen der Teilchen i ausgedrückt werden:

$$g_1(t) = B \cdot \frac{\sum_i m_i M_i P_i(q) \exp(-q^2 D_i t)}{\sum_i m_i M_i P_i(q)}. \quad (46)$$

D_i : translatorischer Diffusionskoeffizient der Teilchensorte i

m_i : Massenanteil der Teilchensorte i

M_i : Molmasse der Teilchensorte i

Durch Auftragung von $\frac{d[\ln(g_1(t))]}{dt}$ gegen q^2 erhält man das z-Mittel des Diffusionskoeffizienten.

$$\left[\frac{d[\ln(g_1(t))]}{dt} \right]_{t \rightarrow 0} = q^2 \frac{\sum_i m_i M_i P_i(q) D_i}{\sum_i m_i M_i P_i(q)} = q^2 D_z. \quad (47)$$

Der Diffusionskoeffizient bei polydispersen Systemen wird mit einer Näherung der logarithmischen Korrelationsfunktion durch eine Kumulantenreihe bestimmt:

$$\ln g_1(t) = -\Gamma_1 \tau + \frac{\Gamma_2}{2!} \tau^2 - \frac{\Gamma_3}{3!} \tau^3 + \dots \quad (48)$$

Γ_i : i -ter Kumulant

Aus dem ersten Kumulanten $\Gamma_1 = \langle D_i \rangle q^2$ ergibt sich somit der gemittelte Diffusionskoeffizient $\langle D_i \rangle$ und damit der zugehörige, inverse gemittelte hydrodynamische Radius $\langle R_H^{-1} \rangle$.^[160]

Der zweite Kumulant $\Gamma_2 = (\langle D_i^2 \rangle - \langle D_i \rangle^2) q^4$ liefert ein qualitatives Maß für die Polydispersität der Verteilungsfunktion der Diffusionskoeffizienten (σ_D), welches wie folgt definiert ist:

$$\sigma_D = \frac{\sqrt{(\langle D_i^2 \rangle - \langle D_i \rangle^2)}}{\langle D_i \rangle} = \sqrt{\frac{\Gamma_2}{\Gamma_1^2}}. \quad (49)$$

σ_D : Polydispersität der Verteilungsfunktion der Diffusionskoeffizienten

Unter der Annahme einer gegebenen Funktion für die Partikelgrößenverteilung – zum Beispiel eine Verteilung nach Gauss oder Poisson – kann die Polydispersität der Größe (σ_R) über die Polydispersität der Verteilungsfunktion der Diffusionskoeffizienten (σ_D) berechnet werden:

$$\sigma_R = \frac{\sqrt{(\langle R_H^2 \rangle - \langle R_H \rangle^2)}}{\langle R_H \rangle}. \quad (50)$$

σ_R : Polydispersität der Größe

Ist der Formfaktor $P_i(q)$ größer 1, definiert man aus der Anfangssteigung Γ einen scheinbaren, apparenten Diffusionskoeffizienten D_{app} , der abhängig von q ist:

$$\Gamma = q^2 \cdot D_{app}(q). \quad (51)$$

D_{app} : scheinbarere, apparenter Diffusionskoeffizient

Zur Berechnung des realen Diffusionskoeffizienten D_z von Einzelmolekülen erfolgt analog zu einem Zimm-Plot eine Extrapolation auf $c = 0$ und $q = 0$.

$$D_{app}(q, c) = D_z(1 + C\langle R_g^2 \rangle_z q^2 + \dots)(1 + k_d c + \dots). \quad (52)$$

C : dimensionslose Größe, abhängig von der Molekülstruktur

$$k_d = 2A_2 - k_f - v_p$$

v_p : partielles Molvolumen des Polymers

Aus den extrapolierten Werten ergibt sich unter Verwendung des Stokes-Einstein-Gesetzes ein kugeläquivalenter hydrodynamischer Radius, der den Reziprokwert eines inversen z-Mittels darstellt.

$$R_h = \left\langle \frac{1}{R_h} \right\rangle_z^{-1} = \frac{kT}{6\pi\eta_0 D_z}. \quad (53)$$

η_0 : partielles Molvolumen des Polymers

$$k : \text{Boltzmann – Konstante} \triangleq 1,38 \cdot 10^{-23} \frac{J}{K}$$

Die höheren Kumulanten aus der Gleichung (52) stellen ein qualitatives Maß für die Polydispersität der Probe dar, wenn $g_1(t)$ lediglich von der Translationsdiffusion der Teilchen abhängig ist.

Durch eine Extrapolation für $q \rightarrow 0$ des apparenten Diffusionskoeffizienten und $c \rightarrow 0$ erhält man dann das z-Mittel des Diffusionskoeffizienten D_z .

$$\lim_{q \rightarrow 0} [D_{app}(q)] = D_z. \quad (54)$$

3.2 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) ist eine wichtige Analysemethode für kolloidale Partikel (Größe und Morphologie) und Strukturen in der Größenordnung von einigen Mikrometern bis zu wenigen Nanometern.^[41]

Die TEM ist analog zur Lichtmikroskopie ein direktes Abbildungsverfahren, welche allerdings beschleunigte Elektronen ($\lambda \approx 10^{-3} \text{ nm}$) anstelle sichtbaren Lichts ($\lambda \approx 380 - 750 \text{ nm}$) nutzt. Dadurch erreicht man mit der TEM eine erheblich bessere Auflösung ($\delta = 0,1 - 0,2 \text{ nm}$) im Vergleich zur klassischen Lichtmikroskopie ($\delta = 200 \text{ nm}$).

Die optische Auflösung in der Mikroskopie ist definiert als der minimale Abstand, den zwei Strukturen (punktförmige Objekte oder Linien in einem optischen Gitter) haben müssen, um auch nach der Abbildung noch als voneinander getrennte Strukturen wahrgenommen werden zu können.

Die Auflösungsgrenze oder auch Abbe-Limit (nach Ernst Abbe) kann mit folgender Formel berechnet werden:

$$\delta = \frac{\lambda}{\eta \sin \alpha}. \quad (55)$$

δ : *erzielbare Auflösung*

λ : *Wellenlänge des verwendeten Lichts*

η : *Brechungsindex des Immersionsmediums*

α : *Akzeptanzwinkel des Objektivs*

Da die numerische Apertur (NA) definiert ist als $n \cdot \sin \alpha$, kann die Formel zur Berechnung der erzielbaren Auflösung auch folgender Maßen dargestellt werden:

$$d = \frac{\lambda}{NA}. \quad (56)$$

d : *Auflösung*

NA : *Numerische Apertur des Objektivs*

Als Faustregel kann als Näherung für die Auflösungsgrenze $\frac{\lambda}{2}$ angenommen werden.

Da blaues Licht die kürzeste Wellenlänge im sichtbaren Spektrum besitzt, beträgt die Auflösungsgrenze konventioneller Lichtmikroskopie somit rund 200 nm.

Das erste Transmissionselektronenmikroskop wurde bereits 1931 von Ernst Ruska und Max Knoll gebaut. Dafür erhielten sie 1986 den Nobelpreis für Physik.

Der Aufbau eines Transmissionselektronenmikroskops ähnelt stark dem eines Lichtmikroskops (siehe Abbildung 39).

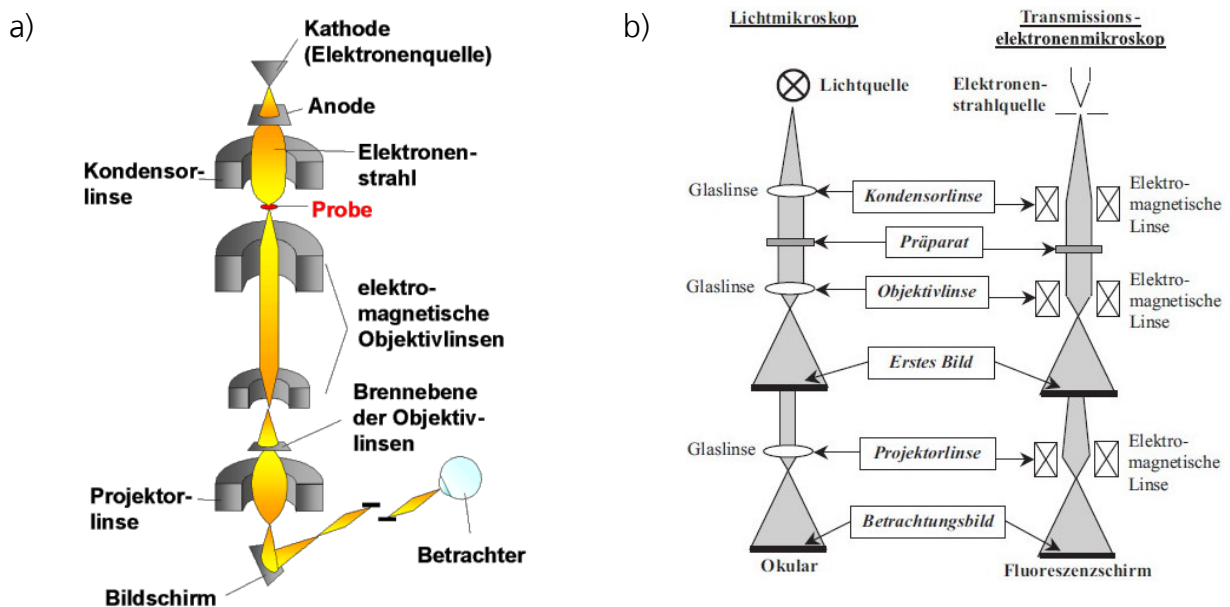


Abbildung 39: a) Schematische Darstellung des Strahlengangs eines Transmissionselektronenmikroskops.^[162] b) Vergleich des schematischen Aufbaus eines Transmissionselektronenmikroskops (links) mit einem klassischen Lichtmikroskop (rechts).^[163]

Die Kathode ist vergleichbar zur Lichtquelle eines klassischen Lichtmikroskops. Durch thermische Emission wird ein Elektronenstrahl an der Kathode erzeugt, welcher durch eine angelegte Hochspannung (50 – 200 kV) an die Anode mit definierter Energie beschleunigt wird. Aufgrund der starken Streuung von Elektronen an Gasmolekülen muss im Hochvakuum (10^{-2} – 10^{-8} Pa) gearbeitet werden.^[164]

Wenn der Elektronenstrahl durch eine Bohrung am Boden der Anode austritt erfolgt eine Fokussierung durch leistungsstarke Elektromagnete. Diese werden auch als elektromagnetische Linsen bezeichnet, da sie wie optische Linsen in einem Lichtmikroskop wirken.

Der gebündelte Elektronenstrahl trifft nun auf die Probe und wird beim Durchdringen gestreut. Die Streuung erfolgt umso stärker, je höher die Elektronendichte ist. Dadurch erscheinen dickere Strukturen und Atome mit hoher Ordnungszahl als dunklere Bereiche im Vergleich zu Bereichen mit weniger Material und geringerer Elektronendichte. Allgemein sollten die Präparate nicht viel dicker als 100 nm sein.

Die Abbildung, des durch die Elektronen projizierten Bildes, erfolgt auf einem Leuchtschirm mit einer fluoreszierenden Beschichtung, der beim Aufprall der Elektronen sichtbares Licht emittiert. Alternativ kann eine CCD-Kamera verwendet werden, die eine leichte Datenverarbeitung ermöglicht.^[165]

Die Präparation der Proben erfolgt entweder durch Eindampfen einer gelösten Probe auf einem mit Graphit beschichteten Kupfernetz (Grid) oder bei festen Proben durch die Anfertigung extrem dünner Schichten. Da innerhalb des TEMs ein Hochvakuum herrscht, ist das Eindampfen von flüssigen Proben zwingend notwendig. Dies setzt allerdings voraus, dass die Proben im trockenen Zustand stabil sind.

Während des Trocknungsvorgangs kann es allerdings zur Artefaktbildung kommen: Durch das Trocknen können polymere Kolloide aufgrund der Abgabe eingelagerten Wassers schrumpfen oder aber bei Verlust der dreidimensionalen Struktur vergrößert erscheinen. Darüber hinaus kann es während des Trocknens zur Zusammenlagerung von Partikeln kommen, die allerdings keinen Rückschluss auf ein Aggregationsverhalten in Lösung erlauben.

3.2.1 Cryo-Transmissionselektronenmikroskopie (Cryo-TEM)^[116]

Die Cryo-Transmissionselektronenmikroskopie ermöglicht eine Messung von in Wasser gelösten Proben in ihrem Medium. Dazu wird die wässrige Probe auf ein dünnes Kupfernetz aufgetragen und überschüssiges Wasser abgetropft, sodass lediglich ein sehr dünner Wasserfilm auf dem Grid übrig bleibt.

Mit Hilfe von flüssigem Propan wird das Präparat schockgefroren. Mit dieser Methode erfolgt das Einfrieren der Probe so schnell, dass das Wasser nicht genügend Zeit zum Auskristallisieren hat und die Probe somit in glasartigem Wasser konserviert vorliegt, welches zudem einen sehr geringen Kontrast aufweist und sich daher hervorragend als Matrix in der Elektronenmikroskopie eignet.

Im weiteren Verlauf ist es notwendig, das Präparat ständig zu kühlen, um ein Auftauen zu verhindern.

3.3 Dichtemessung mit Biegeschwinger

Die Dichte (ρ) ist als der Quotient aus der Masse (m) und dem Volumen (V) einer Substanz definiert:

$$\rho = \frac{m}{V}. \quad (57)$$

ρ : Dichte

m : Masse

V : Volumen

Das Volumen eines reinen Stoffes ist abhängig von der Molmenge (n), der Temperatur (T) und dem Druck (p):

$$V = f(n, p, T) = nV_m(p, T). \quad (58)$$

n : Molmenge

T : Temperatur

p : Druck

Für das Volumen eines reinen Stoffes existiert keine allgemeine Zustandsgleichung wie das bei Gasen der Fall ist (ideales Gasgesetz, van-der-Waals-Gleichung). Die Stoffdaten können als Tabellen in Handbüchern und Datenbanken nachgeschlagen werden.

Für Mischungen zweier Flüssigkeiten 1 und 2 mit idealer Mischbarkeit lässt sich das Volumen des Gemischs (V_{id}) als Summe der molaren Volumina jeweils multipliziert mit der Stoffmenge angeben:

$$V_{id} = f(n_1, n_2) = n_1V_{m,1} + n_2V_{m,2}. \quad (59)$$

$_{id}$: im Idealfall

Damit ein ideales Mischverhalten von zwei Flüssigkeiten vorliegt, müssen die zwischenmolekularen Wechselwirkungen der reinen Komponenten untereinander (ε_{11} und ε_{22}) identisch sein zu denen zwischen den beiden Komponenten (ε_{12} und ε_{21}).

$$\varepsilon_{id} = \varepsilon_{11} + \varepsilon_{22} = \varepsilon_{12,id} + \varepsilon_{21,id} = 2\varepsilon_{12,id}. \quad (60)$$

ε_{xy} : zwischenmolekulare Wechselwirkung zwischen Molekül x und Molekül y

Bei realen Mischungen ist diese ε_{id} -Bedingung jedoch nicht erfüllt, sondern die Exzesswechselwirkung (ε_{12}^E) wird noch hinzu addiert.

$$\varepsilon_{real} = \varepsilon_{id} + 2\varepsilon_{12}^E. \quad (61)$$

real : im Realfall

Dies macht sich beispielsweise beim Mischen von Wasser mit Ethanol durch eine Volumenabnahme bemerkbar.

3.3.1 Messprinzip des Biegeschwingers

Das Gerät Mettler Toledo D45 berechnet die relative Dichte (d) einer Probe. Diese wird aus dem Verhältnis der Dichte (ρ) der Probe zur Referenzdichte einer Bezugssubstanz (ρ_0) ermittelt.^[166]

$$d = \frac{\rho}{\rho_0}. \quad (62)$$

d : relative Dichte einer Probe

ρ : Dichte der Probe

ρ_0 : Dichte einer Referenzsubstanz

Als Bezugsdichte dient die Dichte von Wasser. Dazu ist in dem Gerät die Dichte von Reinstwasser in der Abhängigkeit von der Temperatur gespeichert.^[166]

Für die Dichtemessungen wird ein U-förmiges Glasrohr durch einen Magneten zu elektromagnetisch induzierter Schwingung angeregt.^[166]

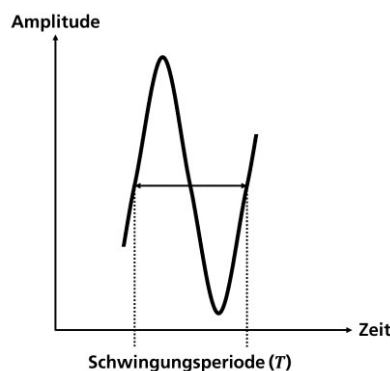


Abbildung 40: Graphische Darstellung einer Schwingungsperiode.^[166]

Die Anzahl der Schwingungen pro Minute ist die Frequenz (f).

$$f = \frac{1}{T}. \quad (63)$$

f : Frequenz = Anzahl der Schwingungen pro Minute

T : Schwingungsperiode

Jedes Glasrohr schwingt in einer Eigenfrequenz, die sich durch das Befüllen mit einer Flüssigkeit oder einem Gas ändert. Mit zunehmender Masse der Befüllung wird die Schwingungsdauer länger und die Frequenz sinkt somit.^[166]

Die Schwingungsperiode (T) wird durch einen Sensor gemessen. Sie ist abhängig von der Dichte der Substanz (ρ), dem Volumen der Probe (V_c) – welches der Kapazität der Messzelle entspricht – der Masse der Messzelle (m_c) sowie der Messzellen-Konstanten(K):^[166]

$$T = 2\pi \sqrt{\frac{\rho V_c + m_c}{K}}. \quad (64)$$

T : *Schwingungsperiode*
 m_c : *Masse der Messzelle*
 K : *Messzellenkonstante*

Daraus folgt:^[166]

$$\rho = \frac{K}{4\pi^2 V_c} T^2 - \frac{m_c}{V_c}. \quad (65)$$

Vereinfacht lässt sich diese Formel mit A und B als Konstanten darstellen, die von der Struktur, Masse und Elastizität der Messzelle abhängen.^[166]

$$\rho = AT^2 + B. \quad (66)$$

Diese Konstanten sind von Zelle zu Zelle unterschiedlich und werden anhand einer Kalibrierung als Zellfaktor (F) bestimmt. Dafür werden die Schwingungsperioden zweier Standardsubstanzen (in der Regel Luft (L) und Wasser (W)) mit bekannter Dichte gemessen. Da sich mit der Temperatur das Volumen und damit die Schwingungsperiode der Messzelle ändert, muss vor einer Messung eine Kalibrierung bei der entsprechenden Temperatur vorgenommen werden.^[166]

$$F = \frac{K}{4\pi^2 V_c} = \frac{\rho_L - \rho_W}{T_L^2 - T_W^2}. \quad (67)$$

F : *Zellfaktor*
 L : *Schwingungsperiode von Luft*
 W : *Schwingungsperiode von Wasser*

Nach der Faktorbestimmung kann über die Messung der Schwingungsperiode die unbekannte Dichte einer Probe (ρ_p) berechnet werden:^[166]

$$F(T_L^2 - T_P^2) = (\rho_L - \rho_P). \quad (68)$$

Daraus ergibt sich aufgelöst nach ρ_P :^[166]

$$\rho_P = \rho_L - F(T_L^2 - T_P^2). \quad (69)$$

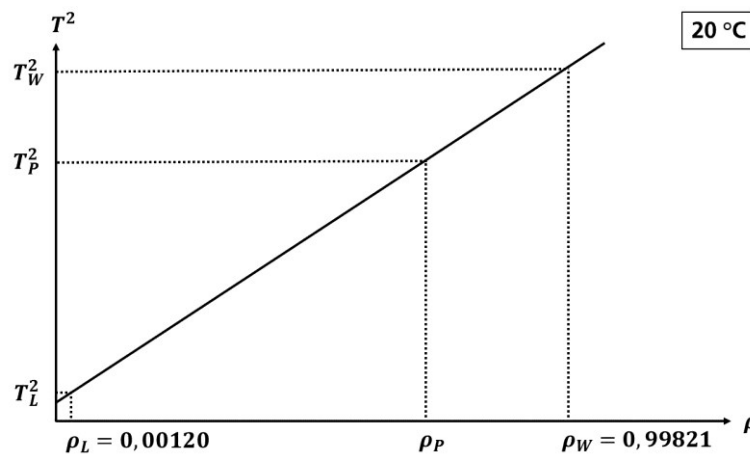


Abbildung 41: Graphische Bestimmung der unbekannten Dichte einer Probe ρ_P bei 20 °C nach Kalibrierung mit Wasser und Luft (modifiziert nach ^[166]).

3.3.2 Aufbau der Messzelle und Temperaturregelung

Für eine möglichst exakte Bestimmung der Dichte ist eine sehr präzise Messung und Regelung der Temperatur unabdingbar. Eine Messung direkt am U-Rohr ist nicht möglich, weil hierdurch die Schwingungsverhalten beeinträchtigt würde. Deswegen erfolgt eine Messung der Temperatur an drei unterschiedlichen Stellen: Als Referenztemperatur wird die Temperatur im Inneren des Geräts gemessen (Temperatursensor 1, siehe Abbildung 42). Die Zelltemperatur wird über einen Sensor direkt über dem U-Rohr gemessen (Temperatursensor 2, siehe Abbildung 42). Um die Steuerung des Thermo-Elements (Peltier Element, siehe Abbildung 42) zu optimieren, befindet sich ein dritter Sensor am Thermoblock, welcher durch das Peltier-Element geheizt oder gekühlt wird.

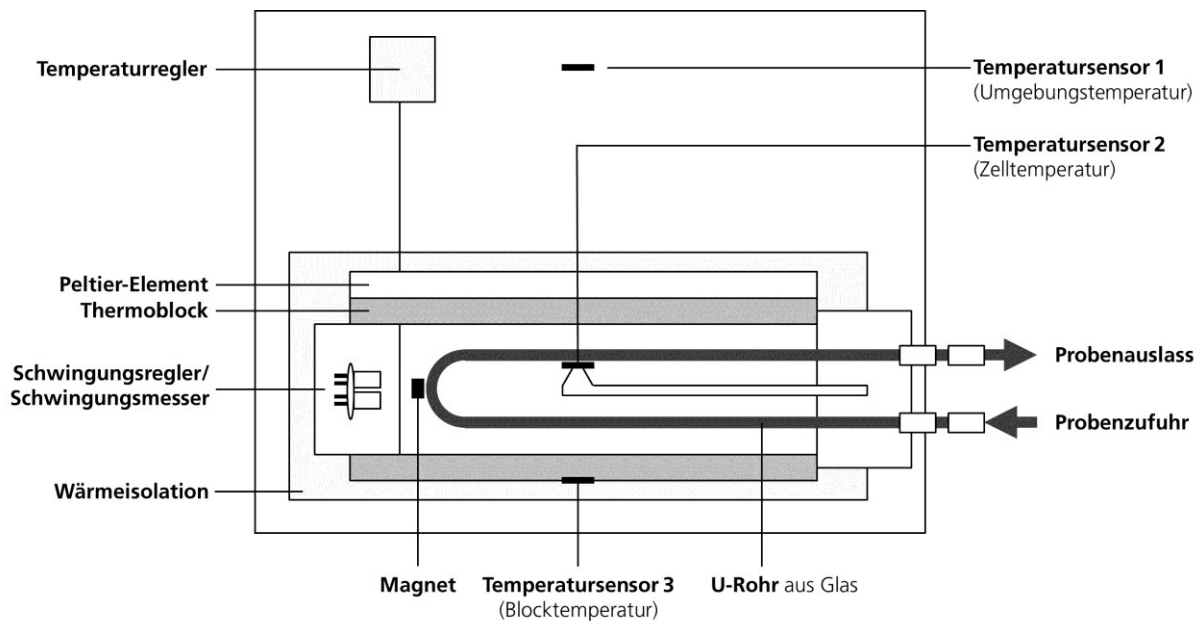


Abbildung 42: Aufbau der Messzelle des Biegeschwingers (modifiziert nach ^[166]).

Da die Resonanzfrequenz des U-Rohrs von der Dichte der Probe abhängt, welche wiederum temperaturabhängig ist, muss die Temperatur der Probe durch aufheizen/abkühlen an die gewählte Messtemperatur angepasst werden. Das thermische Gleichgewicht ist erreicht, sobald sich die Schwingungsfrequenz stabilisiert. Da dies allerdings einige Zeit dauern kann, wurden von Mettler Toledo drei unterschiedliche Stabilitätskriterien (Stabilität 0, Stabilität 1 und Stabilität 2) definiert, um eine verkürzte Messzeit zu realisieren.

Bei dem Kriterium „Stabilität 0“ wird so lange gewartet, bis die das Signal für 77 Sekunden ein $\Delta T \leq 4$ aufweist. Dadurch wird eine Genauigkeit von $\pm 1 \cdot 10^{-5}$ erreicht. Mit dem Modus „Stabilität“, der bei allen Messungen im Rahmen dieser Arbeit verwendet wurde, wird anhand eines patentierten Algorithmus der endgültige T-Wert aus dem Verlauf der Steigung ($\Delta T / \Delta T_{emp}$) extrapoliert und daraus die Dichte berechnet. Somit wird die Messzeit bei gleichbleibender Genauigkeit halbiert. Eine weitere Halbierung der Messzeit ist mit einem weiteren patentierter Algorithmus möglich, der ebenfalls über eine Extrapolation der Steigung ($\Delta T / \Delta T_{emp}$) die Dichte ermittelt. Bei dieser Methode wird allerdings nur noch eine Genauigkeit von $\pm 2 \cdot 10^{-4}$ erreicht.

Die unterschiedlichen Stabilitätskriterien sind in Abbildung 43 graphisch dargestellt.

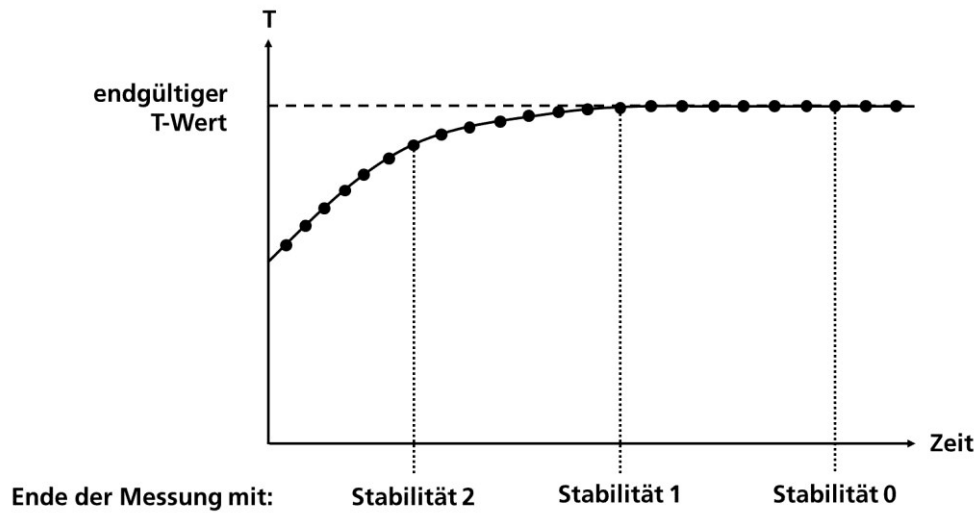


Abbildung 43: Stabilitätskriterien für Ende der Schwingungsmessung und anschließende Extrapolation der Steigung anhand eines patentierten Algorithmus zur Berechnung der Dichte.^[166]

3.4 UV/VIS-Spektroskopie

Allgemein nutzen spektroskopische Methoden die Wechselwirkung elektromagnetischer Strahlung mit Materie, um daraus Rückschlüsse über die Eigenschaften der bestrahlten Probe zu ziehen.

Bei der UV/VIS-Spektroskopie beschränkt man sich auf den ultravioletten (UV) und den sichtbaren (VIS, engl. für *visible*) Wellenlängenbereich.

Trifft eine elektromagnetische Welle auf ein Molekül, kann es zur Absorption, einer Energieaufnahme, kommen. Dabei erfolgt im Molekül eine Anregung der Valenzelektronen der äußeren Schale und diese werden auf höhere Energieniveaus angehoben. Die Energieabsorption bei unterschiedlichen Wellenlängen liefert Informationen über die Anwesenheit bestimmter Moleküle in der Probe oder über Bindungsverhältnisse innerhalb der Moleküle.

Das Lambert-Beersche-Gesetz beschreibt, dass die Abschwächung der Intensität des eingestrahnten Lichts (Absorption A durch ein isotropes, homogenes Medium) proportional zur Konzentration der Probe und der Schichtdicke der Küvette ist.

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot c \cdot d. \quad (70)$$

A : Absorption durch ein isotropes, homogenes Medium

I_0, I : Intensität der Strahlung vor bzw. nach Durchgang durch die Probe

ε : molarer, dekadischer Extinktionskoeffizient, stoffspezifische Konstante

c : Konzentration der Probe

d : Schichtdicke der Küvette

Nach Durchführung einer entsprechenden Kalibrierung ist eine Konzentrationsbestimmung der Probe möglich.

Gemessen wird bei der UV/VIS-Spektroskopie in der Regel mit einer Proben- und einer Referenzküvette. Mit Hilfe eines Monochromators kann nacheinander selektiv jede einzelne Wellenlänge zwischen 200 nm und 800 nm genutzt werden, um über einen Sektorspiegel abwechselnd durch die Probenküvette und die Referenzküvette geleitet zu werden. Das transmittierte Licht wird von einem Detektor erfasst und über die Differenz der beiden Signale wird die Absorption der Probe bestimmt. Das UV/VIS-Spektrum ergibt sich aus der Auftragung der Absorption gegen die Wellenlänge.

3.5 Fluoreszenzspektroskopie

Die Fluoreszenzspektroskopie wird zur Untersuchung fluoreszierender Moleküle und Partikel genutzt. Dabei erfolgt die Anregung der Moleküle analog zur UV/VIS-Spektroskopie (siehe Kapitel 3.4) durch elektromagnetische Strahlung im Wellenlängenbereich von 200 nm bis 750 nm.

Das Jablonski-Diagramm in Abbildung 44 zeigt die möglichen Übergänge von Valenzelektronen in die verschiedenen Anregungszustände bei Einstrahlung von Licht und wieder zurück zum Grundzustand.

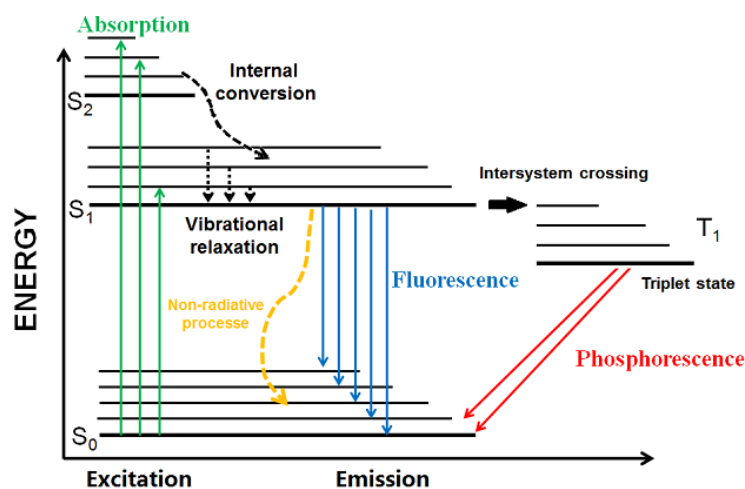


Abbildung 44: Jablonski-Diagramm mit farblicher Markierung der Absorption (→), Fluoreszenz (→, Stokes-Linie) und Phosphoreszenz (→) sowie den strahlungslosen Prozessen (→).^[167]

Durch elektromagnetische Strahlung angeregte Moleküle (siehe **Absorption** in Abbildung 44) haben die Möglichkeit, diese aufgenommene Energie auf unterschiedlichen Wegen wieder abzugeben. Sowohl die **Schwingungsrelaxation** (siehe *Vibrational relaxation* in Abbildung 44) als auch **interne Konversion** (siehe *Internal conversion* in Abbildung 44) sind schnelle, strahlungslose Übergänge (10^{-13} s – 10^{-12} s) aus angeregten in energetisch tiefer liegende Zustände, bei denen Energie in Form von Wärme an die Umgebung abgegeben wird.

Durch die ablaufende Schwingungsrelaxation kommt es zur Absenkung bis auf den niedrigsten Schwingungsgrundzustand ($v = 0$) innerhalb eines elektronischen Zustands (siehe *Vibrational relaxation* in Abbildung 44). Die interne Konversion ist ein strahlungsloser Übergang zwischen elektronischen Zuständen, von einem angeregten elektronischen Niveau in das darunterliegende elektronische Niveau derselben Spinmultiplizität.

Bestimmte Moleküle können durch die Abgabe von Strahlung aus einem elektronischen Zustand ohne innere Konversion einen niedrigeren erreichen; dies bezeichnet man als **Fluoreszenz** (siehe *Fluorescence* in Abbildung 44).

Bei der **Phosphoreszenz** (siehe Phosphoreszenz in Abbildung 44) findet zuerst durch **Interkombination** (siehe *Intersystem crossing* in Abbildung 44) ein strahlungsloser Übergang von dem elektronisch angeregten Singulett in den Triplettzustand mit einer veränderten Multiplizität statt. Erfolgt nach Erreichen des niedrigsten Schwingungsgrundzustandes die Rückkehr in den Grundzustand unter Lichtabstrahlung, so bezeichnet man dies als Phosphoreszenz.

Die Stokessche Regel besagt, dass normalerweise die abgegebene Energie geringer ist als die eingestrahlte Energie. Im Falle der Resonanzfluoreszenz stimmt die emittierte Wellenlänge mit der zuvor absorbierten überein. In seltenen Fällen kann es vorkommen, dass die Strahlung sogar mit höherer Energie emittiert wird. Diese zusätzliche Energie kann zum Beispiel aus thermischer Energie stammen.^[168]

Abbildung 45 zeigt schematisch zwei unterschiedliche Apparaturen zur Fluoreszenzspektroskopie.

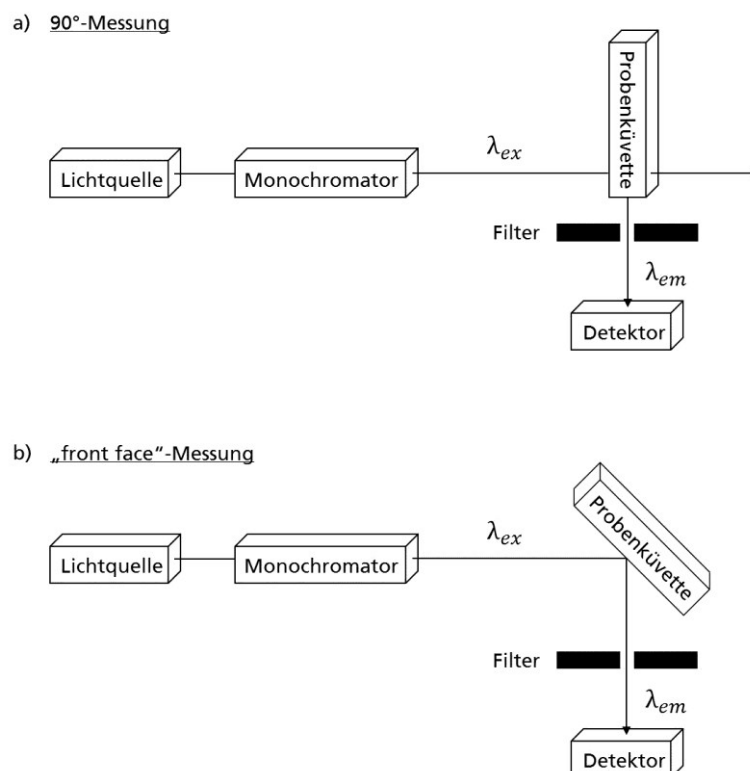


Abbildung 45: Schematische Darstellungen von Apparaturen zur Fluoreszenzspektroskopie (modifiziert nach ^[169]).

Wie auch schon bei der UV/VIS-Spektroskopie (vergleiche Kapitel 3.4) erfolgt eine Selektion der einzelnen Wellenlängen durch einen Monochromator, um dann weiter durch die Probenküvette geleitet zu werden.

Standardmäßig misst ein Detektor orthogonal zur Anregung die Fluoreszenzintensität des emittierten Lichts (siehe Abbildung 45a). Durch einen Filter zwischen der Probe und dem Detektor wird auftretendes Streulicht abgefangen.

Bei manchen Proben kann, z.B. aufgrund einer hohen Konzentration, Reabsorption stattfinden, was zu einer starken Schwächung der Fluoreszenz führt. Durch die „front face“-Messung kann die Reabsorption verringert werden, da bei diesem Aufbau der Messapparatur die emittierte Strahlung nur noch einen sehr kurzen Weg durch die Probe zurücklegen muss.

Die Fluoreszenzspektroskopie bietet die Möglichkeit zur Messung sowohl des Emissions- als auch des Anregungsspektrums einer Probe.

Zur Messung eines Emissionsspektrums wird bei konstant gehaltener Anregungswellenlänge ($\lambda_{ex} = \textit{konstant}$) im Bereich der Absorption λ_{abs} des untersuchten Moleküls die Fluoreszenzabhängigkeit in Abhängigkeit der detektierten Wellenlänge (λ_{em}) gemessen. Beim Anregungsspektrum wird im Gegensatz dazu die Fluoreszenzintensität bei Variation der Anregungswellenlänge (λ_{ex}) gemessen, während die Wellenlänge der Detektion im Bereich des Emissionsmaximums der untersuchten Probe konstant gehalten wird ($\lambda_{em} = \textit{konstant}$).

Die spektrale Form sowie die Wellenlänge der Maxima von Anregungs- und Absorptionsspektrum stimmen in der Regel überein.^[169]

3.6 Durchflusszytometrie (FACS)

Die Durchflusszytometrie (FACS, engl. *Fluorescent Activated Cell Sorting*) ist eine hocheffiziente Methode, um innerhalb kürzester Zeit (> 1000 Zellen/s) Zellen zu vereinzeln, zu analysieren und in Echtzeit zu klassifizieren und zu sortieren.^[170]

Das Verfahren wurde 1968 von Wolfgang Göhde entwickelt und patentiert. Das weltweit erste kommerzielle Gerät war bereit 1971 erhältlich. Die Firma Becton Dickinson (Franklin Lakes, USA) brachte das erste FACS-Gerät 1974 auf den Markt; bei der Abkürzung FACS handelt es sich um ein eingetragenes Warenzeichen des Unternehmens.

In Abbildung 46 ist schematisch das Funktionsprinzip eines Durchflusszytometers dargestellt.

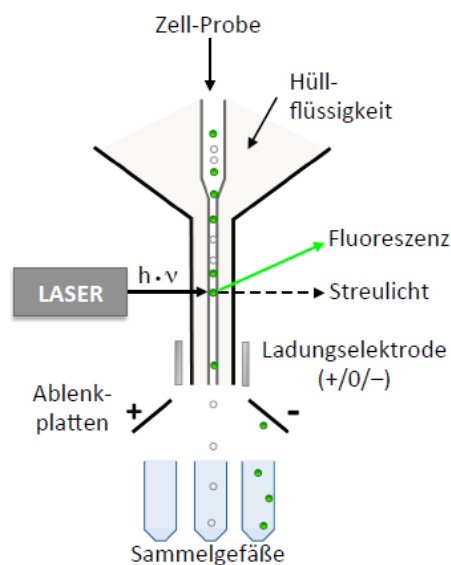


Abbildung 46: Funktionsprinzip eines Durchflusszytometers.^[170] Die Zellen der Zellsuspension werden durch hydrodynamische Fokussierung mittels einer Hüllflüssigkeit in einzelnen Tröpfchen vereinzelt. Beim Durchqueren der Messzelle werden sowohl das Streulicht als auch die Fluoreszenz detektiert. Mit Hilfe einer Ladungselektrode und einer Ablenkplatte können anschließend die Zellen entsprechend ihrer Markierung und Eigenschaften in Echtzeit sortiert und getrennt gesammelt werden.

In einer Vibrationskammer wird die Zellsuspension durch hydrodynamische Fokussierung in feinste Tröpfchen zerteilt. Dabei ist die Tröpfchengröße so klein gewählt, dass lediglich eine Zelle pro Tropfen Platz findet und es so zu einer Vereinzelung kommt.

Beim Durchfließen der Messkammer passieren die vereinzelt Zellen einen Laserstrahl. Dabei kommt es zu einer Anregung der Fluorophore von markierten Zellen. Dafür können z.B. fluoreszenzmarkierte Antikörpern genutzt werden.

Darüber hinaus ist Durchflusszytometrie eine gute Methode um quantitative Aussagen über die Zellbindung oder –aufnahme fluoreszenzmarkierter Nanopartikel zu erhalten.

Das durch die Zellen verursachte Streulicht des Lasers wird in zwei unterschiedlichen Winkeln detektiert und liefert weitere Informationen, da es eine Korrelation zwischen der Größe und Komplexität der Zellen zum Streulicht gibt. Das Vorwärtsstreulicht (FSC = engl. *Forward Scatter*) ist ein Maß für die Größe der Zellen und das Seitwärtsstreulicht (SSC = engl. *Side Scatter*) für die Granularität und damit den Zustand der Zellen.

Bei komplexeren biologischen Untersuchungen können auch unterschiedliche Farbstoffe zur Markierung genutzt werden. In Abhängigkeit von ihren Eigenschaften oder der Markierung können die Zellen in Echtzeit sortiert und in separaten Sammelgefäßen aufgefangen werden. Dazu werden die Zellen über eine Ladungselektrode kurzzeitig aufgeladen und über eine Ablenkplatte mit einem elektrischen Feld in das jeweilige Sammelgefäß gelenkt.

3.7 Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM)

Die konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM, engl. *Confocal Laser Scanning Microscopy*) geht auf Marvin Minsky zurück und wurde 1957 patentiert.^[171]

Ein konfokales Laser-Scanning-Mikroskop stellt ein spezielles Lichtmikroskop dar, welches sich aufgrund seiner hohen räumlichen Auflösung besonders für die Abbildung von morphologischen Details von Geweben bis hin zur subzellulären Ebene eignet.

Der Gegensatz zur klassischen Lichtmikroskopie besteht darin, dass nicht das gesamte Präparat beleuchtet wird, sondern ein fokussierter Laserstrahl die Probe Punkt für Punkt und Ebene für Ebene abrastert.

Die konfokalen optischen Schnitte im zellulären Bereich sind dabei vergleichbar mit computertomographischen Bildern in der Medizin.

Abbildung 47 zeigt den schematischen Aufbau eines konfokalen Laser-Scanning-Mikroskops.

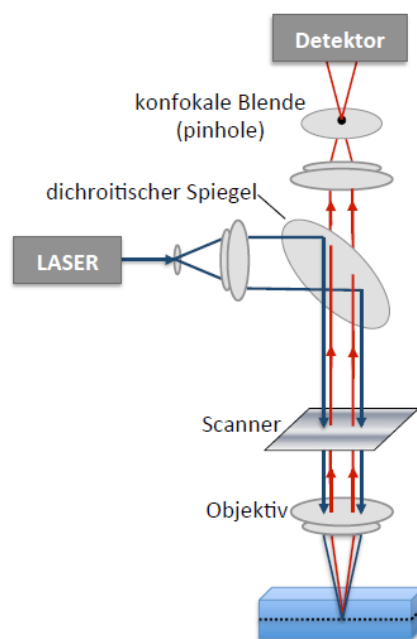


Abbildung 47: Schematischer Aufbau eines konfokalen Laser-Scanning-Mikroskops.^[170]

Über einen dichroitischen (=strahlenteilenden) Spiegel wird, wie bei der konventionellen Fluoreszenzmikroskopie auch, das angeregte Licht einer Wellenlänge zur Probe gelenkt und gleichzeitig das emittierte Licht des Präparats zum Detektor geleitet.

Eine Fokussierung des Lichts auf einen Punkt in der zu untersuchenden Ebene erfolgt durch ein Objektiv. Damit nur das emittierte Licht aus der Fokusebene im Detektor ankommt, wird eine Lochblende („*Pinhole*“) verwendet, die das Streulicht aus anderen Ebenen wirksam abfängt.

Mit galvanometrischen Scanspiegeln gelingt es, mit dem Laserlicht sequenziell die Probe Punkt für Punkt abzurastern und so durch punktgenaue Anregung und Emission einen hochaufgelösten Schnitt durch die Probe zu erhalten. Mit dieser Methode ist eine laterale Auflösung von 0,25 μm (und sogar weniger) möglich.

Durch schrittweises Verschieben der Fokusebene können Stapel unterschiedlicher Schnitt-/ Fokusebenen zusammengestellt und daraus dann ein dreidimensionales Gesamtbild konstruiert werden.

Diese Technik ermöglicht beispielsweise eine genaue Lokalisierung von fluoreszenzmarkierten Nanopartikeln, welche von Zellen aufgenommen wurden. Es kann damit unterschieden werden, ob sich die Nanopartikel tatsächlich innerhalb der Zelle befinden oder lediglich außen an der Zellmembran haften.

4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der vorliegenden Doktorarbeit präsentiert, diskutiert und in Zusammenhang mit aktuellen Forschungsergebnissen gestellt.

4.1 Fallfilmmikroreaktor zur kontinuierlichen Verdampfung eines Lösungsmittels aus einem binären Gemisch

Die zur Thematik der Nutzung des Fallfilmmikroreaktors zum kontinuierlichen Verdampfen eines Lösungsmittels aus einem binären Gemisch gewonnenen Daten und Erkenntnisse wurden bereits publiziert: S. von Bomhard, K.-P. Schelhaas, S. Alebrand, A. Musyanovych, et al., „*Selective solvent evaporation from binary mixtures of water and tetrahydrofuran using a falling film microreactor*“, *Green Processing and Synthesis* 6 (2017) 4, 403–411.^[172]

Die kontinuierliche Herstellung von Nanopartikeln über die Miniemulsionstechnik in Verbindung mit der Lösungsmittelverdampfungsmethode unter Nutzung der Mikroverfahrenstechnik erfordert zur erfolgreichen Partikelisolierung als letzten Schritt der Synthese, die Anwendung eines Reaktors zum kontinuierlichen Abdampfen des verwendeten organischen Lösungsmittels. Hierfür bietet sich ein Fallfilmmikroreaktor an, weshalb dieser hier in Kapitel 4.1 beschrieben und in seinem Verdampfungsverhalten durch Experimente evaluiert wird.

Ursprünglich wurden Fallfilmmikroreaktoren für Reaktionen an der Flüssig-Gas-Grenzfläche entwickelt. In diesem Kapitel wird nun die Eignung des Fallfilmmikroreaktors (FFMR) zum Verdampfen von THF aus einem THF-Wasser-Gemisch durch Stickstoff *Stripping* vorgestellt. Dazu wurden Messungen des Massentransports bei unterschiedlichen Temperaturen und Flussraten durchgeführt. Der verbleibende Anteil an THF im Eluat wurde mit hoher Präzision ($< 0,1\%$) anhand von Dichtemessungen quantifiziert. Eine komplette Verdampfung des Tetrahydrofurans (THF) ist für alle drei gewählten Temperaturen (55 °C, 60 °C und 65 °C) möglich, wenn die Flussraten kleiner 2 mL/min für das Wasser-THF-Gemisch und größer 400 mL/min für den Stickstoffgasstrom sind.

Zur theoretischen Beschreibung und um zukünftige Konstruktionsprozesse eines derartigen binären Mikro-Stripping-Systems zu unterstützen, wurde für diesen Prozess in Zusammenarbeit mit Dres. Karl-Peter Schelhaas und Sabine Alebrand ein Massentransfermodell entwickelt. Ausgangspunkt des Simulationsmodells war dabei ein bereits bestehendes Verfahren, welches den Massentransfer eines Einkomponentensystems, also eines reinen Lösungsmittel selbst, beschreibt.^[173,174]

Die gute Übereinstimmung im gesamten Parameterraum von Rechnung und Experiment zeigen das große Potential dieses hier entwickelten Modells auf, um bei vorgegeben Ausgangsbedingungen die optimalen Betriebsparameter einzustellen.

Das gezielte Abdampfen eines Lösungsmittels aus einem Lösungsmittelgemisch ist einerseits als *Downstreaming*-Prozess bei kontinuierlichen Verfahren von großem Interesse. Andererseits bietet sich durch diese Anwendung auch die Möglichkeit zur kontinuierlichen Darstellung von Nanopartikeln über Aussalzen, wobei es allerdings sehr schnell zu sekundären Aggregationsprozessen kommen kann, da eine makroskopische Fällung erfolgt.

Das schnelle Verdampfen der organischen Lösungsmittelkomponente im Fallfilmmikroreaktor ist hier in der Regel von Vorteil, da die Aufkonzentrierung einstellbar ist und sekundäre Aggregationsprozesse zumeist effektiv unterdrückt werden können.

4.1.1 Überblick zur Phasenkontaktierung bei Gas-Flüssig-Mikroreaktoren

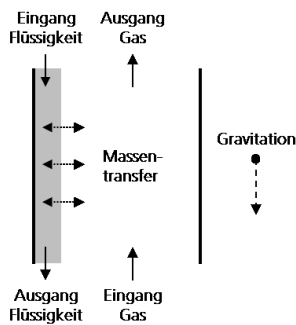
Separationsverfahren sind ein unerlässlicher Schritt bei nahezu jedem chemischem Prozess. Bei großtechnischen Verfahren sind Separationsprozesse, die auf Wärmeübertragung beruhen wie z.B. das Verdampfen oder Destillieren, seit langem etabliert. Im Bereich der Mikroverfahrenstechnik hingegen lag der Forschungsschwerpunkt bisher überwiegend auf reaktiven Prozessen und nicht auf dem Gebiet des *Downstream Processings*.^[175]

Mikrostrukturierte Reaktoren stellen im Allgemeinen eine hervorragende Möglichkeit dar, um mit moderaten Durchsätzen hochwertige und/oder gefährliche chemische Produkte auf Abruf und vor Ort in Minifabriken/Pilotanlagen herzustellen.^[176] Ein wesentlicher Vorteil bei der Miniaturisierung von Separationsprozessen ist, dass der Massentransfer signifikant gesteigert und somit eine höhere Effizienz des Systems erreicht werden kann.^[177–179] Dies beruht auf dem hohen Verhältnis von Oberfläche zu Volumen, kurzen Transportwegen und großen Gradienten der treibenden Kräfte.^[177]

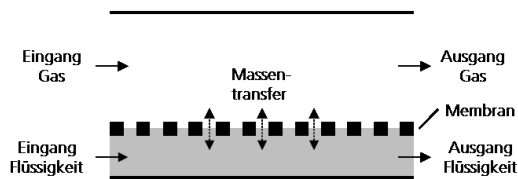
Bisher wurden unterschiedliche Typen von Gas-Flüssig-Mikroreaktoren entwickelt und erfolgreich für viele chemische Reaktionen getestet.^[118,173–176,180–189] Die Reaktoren können anhand des jeweiligen Prinzips der Phasenkontaktierung unterschieden und klassifiziert werden.^[190–192,192] Die Einteilung erfolgt danach, ob die Phasen kontinuierlich oder dispergiert vorliegen (siehe Abbildung 48).

1) Kontinuierliche Phasen

a) Fallfilmmikroreaktor



b) Membranmikroreaktor



2) Dispergierte Phasen

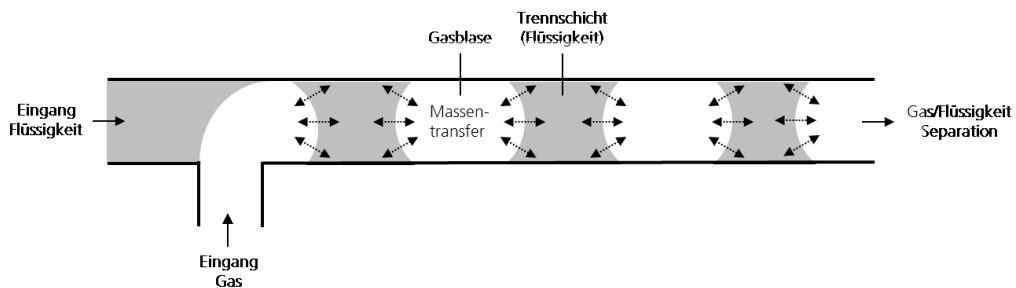


Abbildung 48: In der Literatur beschriebene Funktionsprinzipien von Trennverfahren, die auf Mikrostripping und Mikroabsorption beruhen (modifiziert nach ^[177]).

Bei den Mikroreaktoren mit kontinuierlichen Phasen bilden Flüssigkeit und Gas zwei Ströme, die getrennt voneinander dem entsprechenden Bereich des Mikroreaktors zugeführt werden. Entscheidend für das Design der Reaktoren ist die Art und Weise wie die Phasengrenzfläche zwischen Flüssigkeit und Gas stabilisiert wird.

Beim Fallfilmmikroreaktor wird der Flüssigkeitsstrom durch Gravitation angetrieben. Eine Stabilisierung des Flüssigkeitsfilms erfolgt durch mikrostrukturierte Kanäle auf der Platte, auf der sich der Film ausbildet. Die Strömungsformen und hydrodynamischen Eigenschaften (Filmdicke, Geschwindigkeitsprofil, usw.) werden durch das Benetzungsverhalten, Flussraten, Viskosität, Oberflächenspannung, Kontaktwinkel sowie Kanalgröße und -geometrie beeinflusst.^[177,193–195] Die Hydrodynamik beider Phasen ist miteinander verknüpft. Bei einer im Vergleich zum Gasstrom höheren Fließgeschwindigkeit der Flüssigkeit kann dies z.B. zu einer unerwünschten Rückvermischung innerhalb der Gasphase führen.^[175]

Im Falle von Membranmikroreaktoren gibt es keine Durchmischung von Flüssigkeit- und Gasstrom. Beide Ströme fließen in zwei separaten Kanälen, die durch eine Membran voneinander getrennt sind. Durch die Mikrostrukturen der Membran werden Kapillarkräfte induziert, die eine Kontaktierung der beiden Phasen ermöglichen, aber gleichzeitig eine Durchmischung verhindern.

Im Gegensatz zum Fallfilmmikroreaktor kommt es bei einem Membranmikroreaktor zu einer Entkoppelung der Hydrodynamik der beiden Phasen aufgrund der Membran. Eine Kontrolle der Reaktionsparameter, wie z.B. der Druckdifferenz zwischen Flüssigkeit und Gas ist notwendig, um Durchbrüche zu verhindern.^[177]

Bei Mikroreaktoren mit dispergierten Phasen wird eine kontrollierte Verteilung der Phasen dadurch erreicht, dass der Zustrom des Gases zum Flüssigkeitsstrom selbst die Durchmischung induziert. Einzelne Gasblasen werden durch eine flüssige Trennschicht voneinander isoliert. Dadurch wird die axiale Durchmischung vermindert und die radiale erhöht. Hieraus resultiert eine Pfropfenströmung mit verbessertem Wärme-/ Massentransfer. Das Strömungsmuster wird stark beeinflusst von Flussraten, Mischverhältnis, Fließgeschwindigkeit an den Oberflächen, Oberflächenspannung, Kanalgröße und Benetzbarkeit der Kanaloberfläche.^[191,196]

4.1.2 Technische Daten und Funktionsprinzip von Fallfilmmikroreaktoren

Fallfilmmikroreaktoren wurden für Reaktionen an der Grenzfläche Flüssigkeit-Gas entwickelt. Das Funktionsprinzip aller Fallfilmmikroreaktoren beruht auf einer Vielzahl dünner Fallfilme, die durch die Gravitation nach unten „fallen“. Dies sorgt für eine sehr große Oberfläche bei dünnen Schichtdicken. Die Aufsplittung in viele einzelne schmale Filme wird vorgenommen, da es bei einem einzigen Film derselben Breite zu deutlichen Unterschieden der Schichtdicke zwischen dem Zentrum und den Rändern des Films kommen könnte. Zudem neigen breite Filme zur Wellenbildung und es kommt häufig auch zu Löchern innerhalb des Films. Um den Flüssigkeitsstrom kontrolliert in eine Vielzahl dünner Fallfilme aufzuspalten, werden feine Kanäle in eine Stahlplatte geätzt. Durch dieses Fertigungsverfahren haben die Kanäle keine rechteckigen Maße, sondern sind eher halbkreisförmig.

Der FFMR besteht aus einer mikrostrukturierten Platte mit einer definierten Anzahl an Kanälen. Diese Platte kann von der Rückseite mittels eines Thermostats temperiert werden. Oberhalb der Platte befindet sich ein Freiraum für einen Gasstrom, welcher durch eine Glasplatte abgeschlossen wird. Dieses Glasfenster ermöglicht einen Blick auf den Reaktionsraum und ermöglicht gleichzeitig eine Kontrolle der Benetzung der einzelnen Kanäle.

Die mikrostrukturierte Platte kann formal in drei Bereiche gegliedert werden: Den Zufuhrbereich, in dem der Flüssigstrom auf die einzelnen Kanäle aufgeteilt wird, den Reaktionsbereich, in dem die eigentliche Reaktion stattfindet sowie den Austrittsbereich, in dem sich die Probe ansammelt bevor sie den FFMR verlässt. Dieser letzte Bereich ist sowohl notwendig um einen gleichmäßigen Ausfluss zu garantieren als auch um ein Trockenlaufen einzelner Kanäle durch Kapillarkräfte zu verhindern.

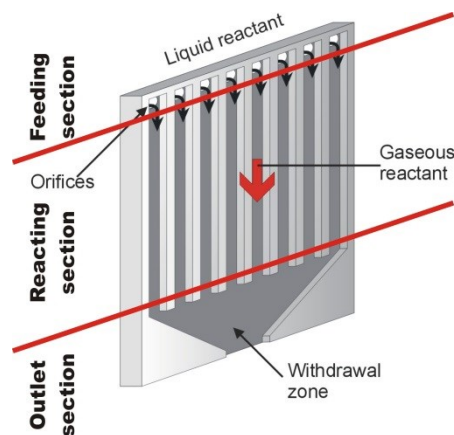


Abbildung 49: Schematische Darstellung der mikrostrukturierten Platte des Fallfilmmikroreaktors.

Ein zirkulierendes Wärmemedium auf der Rückseite der mikrostrukturierten Platte ermöglicht eine präzise Temperierung. Über Wärmefühler an dem Ein- und Ausgang des Wärmemediums kann ein entstehender Temperaturgradient quantifiziert werden. Zwischen der Stahlplatte und der Glasscheibe an der Vorderseite des Reaktors befindet sich der Gasraum, in dem ein Gasstrom in gleicher oder entgegengesetzter Richtung zum Flüssigkeitsstrom angelegt werden kann.



Abbildung 50: STACK-1x-FFMR-LAB-V2 mit danebenliegendem Isoliergehäuse aus PEEK.

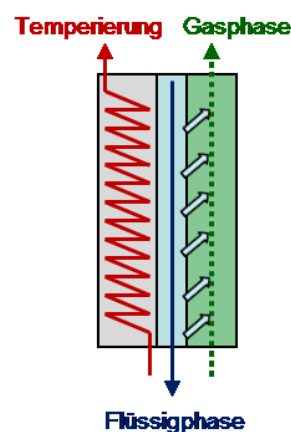


Abbildung 51: Schematische Darstellung des Funktionsprinzips eines Fallfilmmikroreaktors beim Verdampfen.

Der im Rahmen dieser Arbeit verwendete STACK-1x-FFMR-LAB-V2 wurde am Institut für Mikrotechnik Mainz im Rahmen seiner Dissertation von Christian Wille^[197] entworfen und angefertigt.

Dieser Reaktor verfügt über 5 Kanäle mit einer Länge von 25,5 cm über eine Breite von 10 mm. Diese haben eine Breite von 1,2 mm und eine Höhe von 0,4 mm. Die Höhe des Gasraums beträgt 4 mm, wodurch eine spezifische Oberfläche von bis zu 16.500 m²/m³ erreicht werden kann. Eine Besonderheit der STACK-FFMR-Baureihe ist, dass der Reaktor verlötet wurde. Dies ermöglicht einerseits das Arbeiten bei Drücken von bis zu 10 bar, verhindert jedoch andererseits ein Austauschen der mikrostrukturierten Stahlplatte.

Der STACK-1x-FFMR-LAB-V2 eignet sich besonders zur Parametrisierung von Prozessen für die ein späteres *Upscaling* geplant wird, da es bereits entsprechend großvolumige Reaktoren mit 50 Kanälen (STACK-1x-FFMR-LARGE) und 500 Kanälen (STACK-10x-FFMR-LARGE) gibt. Diese FFMR arbeiten bei identischem Design entsprechend ihrer erhöhten Anzahl an Kanälen auch mit dem 10 fachen bzw. 100 fachen der Flussrate des STACK-1x-FFMR-LAB-V2.

4.1.3 Darstellung der wesentlichen Versuchsparameter

Der Verdampfungsprozess einer wässrigen 33 %igen THF-Lösung (Volumenprozent) wurde mit einem STACK-1x-FFMR-LAB-V2^[198] Fallfilmmikroreaktor durchgeführt. Der Einfluss unterschiedlicher Reaktionsparameter auf den THF Gehalt im Eluat wurde untersucht. Zu diesem Zweck wurde die Flussrate des THF-Wasser-Gemischs variiert (1 mL/min, 2 mL/min, 4 mL/min). Die Temperatur der Heizflüssigkeit wurde auf verschiedene Temperaturen unterhalb des Siedepunkts von THF (65,81 °C) eingestellt (55 °C, 60 °C und 65 °C) und durch einen zirkulierenden Wasserkreislauf konstant gehalten.

Darüber hinaus wurde die Flussrate des Stickstoffstroms schrittweise von 0 mL/min bis zu 1000 mL/min eingestellt. Der Gasstrom wurde im Gegenstrom zur Flussrichtung des THF-Wasser-Gemischs angelegt. Sowohl die Gasphase als auch die flüssige Phase wurden nicht vorgewärmt, sondern gelangten mit Raumtemperatur (22 °C) in den Reaktor. Das Eluat verließ den Reaktor durch einen am Ausgang befestigten Schlauch und wurde gesammelt.

Die Quantifizierung des Restgehalts an THF im Eluat erfolgte mit hoher Präzision (Fehler < 0,1 %) durch Dichtemessungen mit einem Mettler Toledo DE45 Biegeschwinger.

Die effektive Verdampfungsrate von Wasser und THF wurde über die Flussratendifferenz am Ein- und Ausgang des Reaktors ermittelt.

Der Aufbau der Anlage zum Betrieb des Fallfilmmikroreaktors ist in Abbildung 52 schematisch dargestellt.

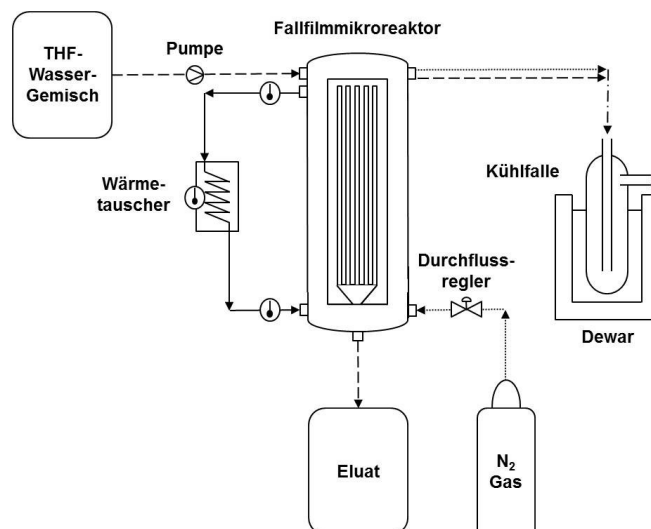


Abbildung 52: Aufbau des Fallfilmmikroreaktors zum kontinuierlichen Verdampfen.

Für detailliertere Beschreibungen der Versuchsdurchführung siehe Kapitel 6.3.1.

Kalibrierung der Dichtebestimmung

Vorversuche haben gezeigt, dass prinzipiell der Restgehalt an THF in Wasser mit einer online-ATR-IR-Sonde bestimmt werden kann. Bei der ATR- (engl. *attenuated total reflection*, dt. abgeschwächte Totalreflexion) IR- (Infrarot) Spektroskopie wird die wellenlängenabhängige Absorption der Probe gemessen.

Hierbei lag die Untergrenze jedoch bei etwa 1 Vol% THF in Wasser. Ein qualitativer Nachweis von THF in THF-Wasser-Gemischen ist somit möglich, jedoch keine eindeutige quantitative Messung, da eine Separation des THF-Peaks von dem des Wassers nicht erreicht werden konnte.

Die Nachweisgrenze mit Gaschromatographie lag bei Verzicht auf Anreicherungsverfahren sogar nur bei 5 % THF in Wasser.

Der Mettler Toledo DE45 Biegeschwinger kann die Dichte einer Flüssigkeit mit einer Genauigkeit von 4,5 Nachkommastellen bestimmen. Dadurch ist nach Erstellung einer Kalibrierung eine Quantifizierung des Restgehalts an THF im Eluat mit hoher Präzision (eine Nachkommastelle) möglich.



Abbildung 53: Dichtemessgerät Mettler Toledo D45 mit Probenzufuhr und Reinigungseinheit SC1.

Zur Kalibrierung wurde eine Verdünnungsreihe für THF in Wasser (von 100 Vol% THF bis zu 0,01 Vol% THF in Wasser) aufgestellt.

Um den Fehler möglichst gering zu halten, wurden die Anteile an THF und Wasser über deren in der Literatur angegebene Dichten berechnet und bei 20 °C eingewogen. Der Fehler der Waage (KERN ABJ 320-4NM) beträgt $\pm 0,1$ mg, dies entspricht einem maximalen Fehler von weniger als einem Prozent bei der geringsten Verdünnung.

Die Dichtemessungen wurden jeweils dreimal in einer auf 25 °C temperierten Messzelle durchgeführt. Die einzelnen Messpunkte wurden dann mit einem Polynom 2.Grades angefitet, siehe Abbildung 54.

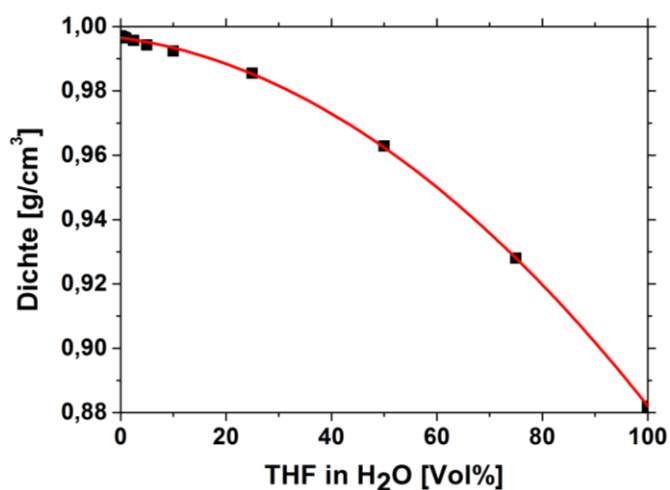


Abbildung 54: Kalibrierung anhand von Dichtemessungen zur Bestimmung des THF-Gehalts von THF-Wasser-Gemischen mit definierten THF-Gehalt, Messung bei 25 °C, Anpassung mit $y = a + bx + cx^2$ mit $a = 0,99974$, $b = -2,21053 \cdot 10^{-4}$ und $c = -9,23885 \cdot 10^{-6}$.

4.1.4 Simulation des Massentransfers

Beim *Stripping* handelt es sich um ein physikalisches Trennverfahren, bei dem eine oder mehrere Komponenten aus einer flüssigen Phase durch Desorption in die Gasphase überführt werden. Hierbei wird die Tatsache genutzt, dass der Partialdruck eines Gases über einer Flüssigkeit direkt proportional zur Konzentration des Gases in der Flüssigkeit ist (Henry-Gesetz). Der Stoffübergang über die Phasengrenzfläche Flüssigkeit-Gas wird basierend auf dem Massentransfer, anhand eines Filmmodells für den Widerstand des Übergangs zwischen unbewegten Schichten von Flüssigkeit und Gas, beschrieben.

Es wird angenommen, dass an der Phasengrenzfläche zwischen Flüssigkeit und Gas ein Gleichgewicht herrscht und innerhalb der Flüssigkeit beide Stoffe vollständig vermischt vorliegen. Letzteres ist gegeben, wenn die Fourier-Zahl sowohl für Wasser als auch für THF größer als 0,8 im gesamten Betriebsbereich ist. Die Fourier-Zahl ist eine dimensionslose Kennzahl, die zur Beschreibung von Problemen der instationären Wärmeleitung dient. Diese ist definiert als das Verhältnis aus der Transportrate zur Speicherungsrate.

$$Fo = a \cdot \frac{t}{L^2} = \frac{\lambda}{c_p \cdot \rho} \cdot \frac{t}{L^2}. \quad (71)$$

Fo : Fourier – Zahl

a : Temperaturleitfähigkeit

t : charakteristische Zeit

L : charakteristische Länge

λ : Wärmeleitfähigkeit

c_p : spezifische Wärmekapazität bei konstantem Druck

ρ : Dichte

In dem gewählten Temperaturbereich (55 °C bis 65 °C) ist THF komplett in Wasser löslich. Der Siedepunkt von THF beträgt 65,81 °C. Aufgrund des hohen Dampfdrucks von in Wasser gelöstem THF, sollte der Massentransfer aus der Flüssigkeit in die Gasphase den Verdampfungsprozess dominieren. Darüber hinaus gibt es noch weitere Prozesse, die den Massentransfer erhöhen; diese werden im folgenden Abschnitt besprochen.

Bei einer Vielzahl an Experimenten mit dünnen Filmen, die unter isothermen Bedingungen eine geneigte oder vertikale Platte hinunter fließen, kam es zu einer Entstehung von Wellen an der freien Oberfläche durch hydrodynamische Instabilität.^[199]

So beobachteten Wasden und Dukler unter anderem eine Steigerung des Massentransfers aufgrund solcher Wellen.^[200] Bei dünnen Filmen, die über eine heiße Platte fließen, kann die Bénard-Maragoni-Konvektion auftreten, die zu einer Erneuerung der flüssigen Schicht führt. Bei Fallfilmen, die von longitudinalen Kanälen geführt werden, spielt dies allerdings lediglich eine untergeordnete Rolle, da die transversale Bewegung der Flüssigkeit durch die kleinen Dimensionen behindert wird.^[201]

Mouschou et al.^[174] haben den Flüssigkeitsstrom von *iso*-Propanol während des Verdampfens in einem STACK-1x-FFMR-LAB-V2 Fallfilmmikroreaktor mit Hilfe eines Mikroskops untersucht. Dabei machten sie folgende Beobachtungen: Bei einer Flussrate von 1 mL/min sind die Mikrokanäle mit Flüssigkeit gefüllt, wenn der Reaktor nicht beheizt wird und kein Gasstrom angelegt wird. Durch Erhitzen des FFMRs sowie steigender Gasflussrate kommt es zu einem signifikanten Verdampfen des Lösemittels bis hin zu einem kompletten Austrocknen der Kanäle (bei Gasflussraten um die 100 mL/min). Bei Flüssigkeitsflussraten von 10 mL/min des *iso*-Propanol kommt es zu keinen trocknen Stellen im Bereich der betrachteten Gasflussraten (bis 700 mL/min). Wenn die Flüssigkeitsflussraten von einem hohen auf ein niedriges Level gedrosselt werden, scheint die Flüssigkeit im mittleren der fünf Kanäle in die entgegengesetzte Richtung zu fließen. Dieses Verhalten tritt bereits bei mittleren Flussraten (3 – 6 mL/min) auf. Die seitlichen Kanäle sind in der Regel gefüllt. Ungleichverteilung und das Trockenfallen von Kanälen kann den Massentransfer stark beeinflussen, sowohl positiv als auch negativ durch eine Reduzierung der Grenzfläche als auch durch Erneuerung des Oberflächenbereichs. Aufgrund all dieser beschriebenen Effekte geht das Modell von einer konstanten Gasschicht aus. Jeglicher weiterer hier beschriebene Effekt wird in Form eines Korrekturfaktors in die Berechnung mit einbezogen.

Die im Rahmen dieser Arbeit angewandte Modellgleichung zur Beschreibung des Strippingprozesses von einer Komponente aus einem System zweier Flüssigkeiten basiert auf der Arbeit von Mouschou et al.^[173] – in welcher die Verdampfung eines reinen Lösungsmittel beschrieben wurde – und wurde darauf aufbauend dann für binäre Systeme entsprechend erweitert.

Die molare Flussrate der flüssigen Phase (L) ergibt sich aus der Summe der beiden Komponenten THF (T) und Wasser (W) mit (x) als dem Molenbruch der flüssigen Phase:

$$F_L = F_{LT} + F_{LW} = x_T F_L + x_W F_L. \quad (72)$$

Die Gasphase (G) enthält zusätzlich Stickstoff (S) als Strippinggas, (y) ist der Molenbruch der Gasphase:

$$F_G = F_{GS} + F_{GT} + F_{GW} = F_{GS} + y_T F_G + y_W F_G = \frac{F_{GS}}{1 - y_T - y_W}. \quad (73)$$

Leitet man F_G nach den Molenbrüchen von T und W ab, folgt daraus:

$$\frac{\partial F_G}{\partial y_T} = \frac{\partial F_G}{\partial y_W} = \frac{F_{GS}}{(1 - y_T - y_W)^2}. \quad (74)$$

Die Änderung der molaren Flussrate auf der Gasseite entlang der z -Achse kann über das totale Differential ausgedrückt werden

$$\frac{dF_G}{dz} = \frac{\partial F_G}{\partial y_T} \frac{dy_T}{dz} + \frac{\partial F_G}{\partial y_W} \frac{dy_W}{dz} = \frac{F_{GS}}{(1 - y_T - y_W)^2} \left(\frac{dy_T}{dz} + \frac{dy_W}{dz} \right) = \frac{dF_{GT}}{dz} + \frac{dF_{GW}}{dz}. \quad (75)$$

Dieses ist gekoppelt mit einer Änderung der molaren Flussrate der flüssigen Phase:

$$-\frac{dF_G}{dz} = \frac{dF_L}{dz} = \frac{dF_{LT}}{dz} + \frac{dF_{LW}}{dz}. \quad (76)$$

Der Fluss der Komponenten K ($= T$ oder W) über die Flüssigkeit-Gas-Grenzfläche mit der Fläche A_i wird berechnet über die Massenbilanz bei der (N) der molare Fluss und (ρ_m) die molare Dichte ist:

$$N_K = \frac{dF_{GK}}{dA^i} = k_{GK} \rho_m (y_K^i - y_K) = k_{GK} \frac{p}{RT} (y_K^i - y_K). \quad (77)$$

wobei k_{GK} den Massentransferkoeffizienten in der Gasphase bezeichnet.

Die molare Dichte wird über das ideale Gasgesetz erhalten:

$$\rho_m = \frac{p}{RT}. \quad (78)$$

Darüber hinaus wird vorausgesetzt, dass der Molenbruch y_K^i der Komponente K sich aus dem Dampf-Flüssigkeit-Gleichgewicht (VLE) ergibt und von dem Molenbruch x_K der Gesamtflussrate der flüssigen Phasen abhängt:

$$y_K^i = f_{VLE}(x_K). \quad (79)$$

Aufgrund der sehr effektiven Wärmeübertragung zwischen dem zirkulierenden Wasserkreislaufs des Thermostats und dem Fallfilmmikroreaktor wird eine isothermale Arbeitsweise des FFMRs angenommen. Um dies zu überprüfen, wurde am Ein- und Ausgang des Reaktors mit Thermoelementen die Temperatur des Wasserkreislaufs gemessen. Dabei war die Temperaturdifferenz im gesamten Betriebsbereich immer kleiner 1 °C.

Der Molenbruch der Gasphase y_K^i von THF und Wasser an der Grenzfläche Flüssigkeit-Gas wurde mit ASPEN Plus™ unter Zuhilfenahme des NRTL-Aktivitätsmodells berechnet. Zur Validierung der Verwendung des Modells von ASPEN Plus™ wurden die berechneten Daten mit experimentellen Ergebnissen aus der Dortmunder Datenbank^[202] verglichen. Dies zeigte über einen großen Temperaturbereich eine zufriedenstellende Übereinstimmung. Die berechneten Werte für y_K^i sind in Abbildung 55 aufgetragen.

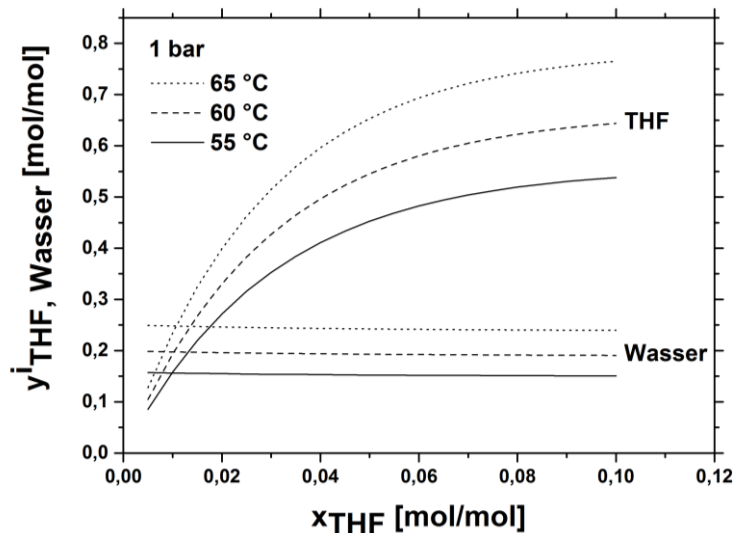


Abbildung 55: Molenbruch der Gasphase von THF und Wasser an der Flüssigkeit-Gas-Grenzfläche.

Kombiniert man die Gleichungen (75) und (77) miteinander und ersetzt dA^i durch $nwdz$, wobei (n) die Anzahl der mikrostrukturierten Kanäle und (w) die Kanalbreite ist, ergibt sich daraus die endgültige Differentialgleichung für den Molenbruch der Gasphase:

$$\frac{dy_K}{dz} = k_{GK} \frac{p}{RT} \frac{nw}{F_{GN}} (y_K^i - y_K) (1 - y_T - y_W)^2. \quad (80)$$

Die Grenzbedingungen für das gesamte System sind

$$\begin{aligned} F_L|_{z=L} &= F_{L,in}, & x_T|_{z=L} &= x_{T,in}, & x_W|_{z=L} &= x_{W,in}, \\ F_G|_{z=0} &= F_{GN}, & y_T|_{z=0} &= 0, & y_W|_{z=0} &= 0. \end{aligned} \quad (81)$$

Die Formel für k_{GK} wurde von van Male et al.^[203] übernommen, die den Wärme- und Massentransfer in von einer Seite beheizten Mikrokanälen mit quadratischem Querschnitt untersucht hat. Im Rahmen dessen entwickelten sie eine Korrelation für die Sherwood-Zahl (Sh) als Funktion der Graetz-Zahl (Gz) für laminare Strömung und Pfropfenströmung:

$$k_{GK} = corr \frac{Sh_K D_{KN}}{h}, \quad Sh_K = 2.43 \left(1 + \left(\frac{Gz_K}{132} \right)^{0.835} \right). \quad (82)$$

Die Sherwood-Zahl ist eine dimensionslose Kennzahl und beschreibt das Verhältnis der effektiv übergehenden Stoffmenge zu der durch reine Diffusion transportierten Stoffmenge. Die Graetz-Zahl ist ebenfalls eine dimensionslose Kennzahl und gibt das Verhältnis von konvektiv übertragener zu abgeleiteter Wärme an.

Die Graetz-Zahl selbst hängt sowohl von der Reynolds- (Re) als auch von der Schmidt-Zahl (Sc) ab:

$$Gz_K = \frac{Re_G Sc_K h}{z}, \quad Sc_K = \frac{\mu_N}{\rho_N D_{KN}}, \quad Re_G = \frac{\rho_N u_N d_h}{\mu_N}. \quad (83)$$

wobei (h) die Höhe und (d_h) den hydraulischen Durchmesser des Gaskanals angeben, (μ) die dynamische Viskosität und (u) die durchschnittliche Geschwindigkeit beschreiben.

Die Reynolds-Zahl ist eine dimensionslose Kennzahl und beschreibt das Verhältnis der Trägheitskraft zur Reibungskraft in einer Strömung. Mit Hilfe der Reynolds-Zahl kann der Umschlag von laminarer zu turbulenter Strömung bestimmt werden.

Die Schmidt-Zahl ist ebenfalls eine dimensionslose Kennzahl und ist definiert als der Quotient der kinetischen Viskosität eines Fluids und dem Diffusionskoeffizienten eines darin enthaltenen Stoffes. Damit kann das Verhältnis von diffusivem Impulstransport zu diffusivem Stofftransport beschrieben werden.

Mouschou et al.^[173] haben gezeigt, dass diese Formeln zur Beschreibung des Massentransfers zwischen der Oberfläche eines Fallfilms und dem Massenstrom des Gases verwendet werden können. Der zusätzliche Korrekturfaktor ($corr$) dient zur Berücksichtigung jeglichen Massentransfers, der in den folgenden Ursachen begründet liegt: Ungleichverteilungen im Fluss, Austrocknen eines Kanal oder Erneuerung einer Oberfläche durch den Marangoni-Effekt sowie Wellenbildung.

Der Marangoni-Effekt ist die Strömung, die durch einen Oberflächenspannungsgradienten hervorgerufen wird. Unterschiede in der Grenzflächenspannung können aus einer Änderung der Temperatur, der Konzentration eines gelösten Stoffes oder der Ladungsdichte entstehen.

4.1.5 Diskussion der experimentellen Daten

In Abbildung 56 werden die experimentellen wie auch die berechneten Daten vergleichend aufgetragen. In der linken Spalte sind die Volumenanteile an THF im Eluat bei unterschiedlichen Flüssigkeitsflussraten dargestellt. Die Messungen wurden bei drei unterschiedlichen Temperaturen (55 °C, 60 °C und 65 °C) und dort bei jeweils drei unterschiedlichen Flussraten (~1 mL/min, ~2 mL/min und ~4 mL/min) des THF-Wasser-Gemischs (33 Vol% THF) durchgeführt. Die rechte Spalte der Abbildung 56 zeigt die jeweils dazugehörigen Volumenströme.

Alle Graphen in Abbildung 56 zeigen den zu erwartenden Zusammenhang, dass der Volumenanteil an THF im Eluat sowohl für steigenden Stickstoffstrom als auch für sinkende Flüssigkeitsflussraten abnimmt. Des Weiteren ist der Abfall des THF-Anteils mit steigendem Stickstoffstrom umso größer je höher die Temperatur ist.

Um also ein möglichst effizientes Stripping des THFs zu erreichen, sollte bei hohen Temperaturen eine niedrige Flussrate für den Feedstrom und ein hoher Volumenstrom des Stickstoffgases eingestellt werden.

Besonders erwähnenswert, vor allem aus technologischer Sicht, ist die Tatsache, dass ein komplettes Verdampfen des THFs bei allen drei untersuchten Temperaturen möglich ist, sobald die Flüssigkeitsflussrate kleiner 2 mL/min und der Stickstoffstrom größer 400 mL/min ist. Darüber hinaus zeigt sich an Hand der Graphen in der rechten Spalte der Abbildung 56, dass der Volumenfluss des Eluats mit steigendem Stickstoffstrom langsam abnimmt. Dies kann damit erklärt werden, dass die Kombination aus dem azeotropen Verhalten, erhöhter Temperatur und Stickstoffstrom dazu führt, dass auch etwas Wasser mit verdampft.

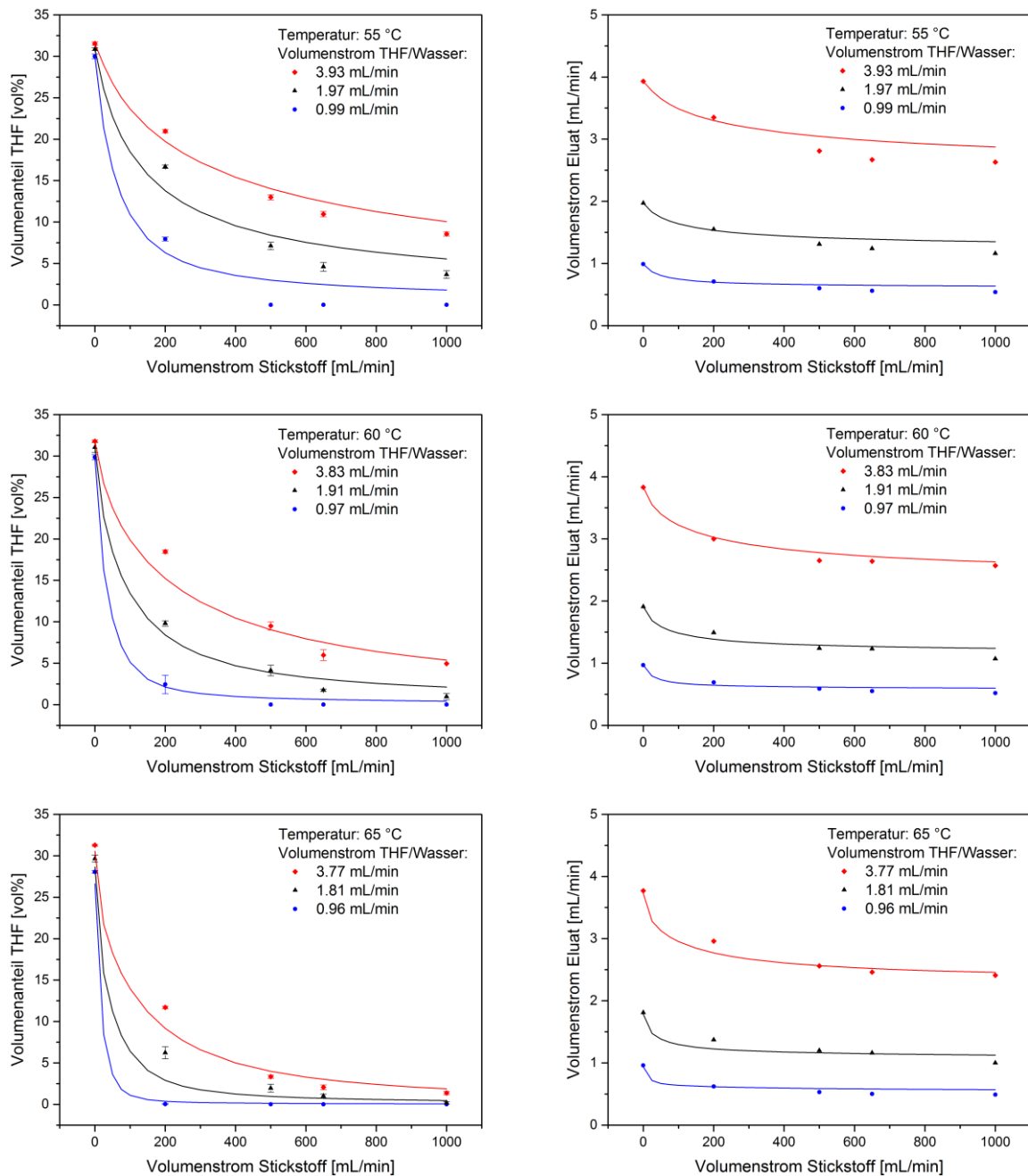


Abbildung 56: Flüssiger Volumenanteil an THF (Abbildungen links) und Volumenstrom des Eluats (Abbildungen rechts) jeweils in Abhängigkeit vom Volumenstrom des Stickstoffs bei eingehenden Volumenströmen von etwa 1 mL/min, 2 mL/min und 4 mL/min Wasser mit 33 Vol% THF und Temperaturen von 55 °C, 60 °C und 65 °C. Die experimentellen Daten sind mit Symbole (◆, ▲, ●) gekennzeichnet, die berechneten Daten sind als durchgezogene Linien in der, dem jeweiligen Volumenstrom entsprechenden Farbe eingezeichnet.

Es wurde gezeigt, dass sowohl die Temperatur als auch die Flussraten des Feedstroms sowie des Stickstoffstroms einen großen Einfluss auf das Verdampfungsverhalten des Systems haben.

Um die Bedeutung des Drucks bei den unterschiedlichen Gasflussraten auf die diskutierten Ergebnisse zu bewerten, wurde mit dem Programm *Druckverlust 6.2* (Software-Factory, Schifferstadt, Deutschland) eine Abschätzung des Druckverlustes innerhalb des verwendeten Fallfilmmikroreaktors bei maximaler Temperatur (65 °C) und Stickstrom (1000 mL/min) durchgeführt (siehe Tabelle 9).

Tabelle 9: Berechnung des Druckverlustes mit Hilfe des Programms *Druckverlust 6.2* (Software-Factory, Schifferstadt, Deutschland) bei Nutzung des STACK-1x-FFMR-LAB-V2 bei einer Temperierung auf 65 °C und einer Flussrate von 1000 mL/min des Stickstoffgases.

Rohrbezeichnung	Einlass	Gasraum	Auslass
Fördermedium	Luft / gasförmig (1,0 bar, 60 °C)	Luft / gasförmig (1,0 bar, 60 °C)	Luft / gasförmig (1,0 bar, 60 °C)
Volumenstrom [mL/min]	1000	1000	1000
Dichte [kg/m ³]	1,045	1,045	1,045
Dynamische Viskosität [10 ⁻⁶ kg/ms]	19,730	19,730	19,730
Temperatur Eingang [°C]	20	65	65
Temperatur Ausgang [°C]	65	65	20
Rohrleitungselement	Kreisrohr	Rechteckrohr	Kreisrohr
Elementabmessung	ø 4,78 mm L : 2 cm	B x H x L [cm] 1 x 0,4 x 25,5	ø 4,78 mm L : 2 cm
Strömungsgeschwindigkeit [m/s]	0,929	0,417	0,929
Reynolds-Zahl	235	126	235
Strömungsform	laminar	laminar	laminar
Rohrreibungszahl	0,272	0,518	0,272
Zeta-Wert	1,139	23,096	1,139
Druckverlust [mbar]	0,006	0,021	0,005

Die Abschätzung des Druckverlustes innerhalb des Fallfilmmikroreaktor mit der Software *Druckverlust 6.2* (Software-Factory, Schifferstadt, Deutschland) ergibt einen Wert von lediglich $3,2 \cdot 10^{-5}$ bar bei der höchsten eingestellten Temperatur von 65 °C und dem maximalen Stickstoffstrom von 1000 mL/min. Daher wird die Annahme getroffen, dass der Druckabfall unter den gewählten Reaktionsparametern auf das Verdampfungsverhalten des Fallfilmmikroreaktors vernachlässigbar ist.

Zusammengefasst zeigen die experimentellen Daten die Machbarkeit und Steuerbarkeit des THF-Strippings mittels eines Mikroreaktors.

Oftmals ist es bei der Aufarbeitung nach der Herstellung von Nanopartikeln von Nöten, die erhaltene Dispersion aufzukonzentrieren. Dies liegt daran, dass bei der Synthese der Kolloide meist in niedrigen Konzentrationen gearbeitet werden muss, um eine möglichst geringe Polydispersität und vor allem ein Agglomerieren der Partikel zu vermeiden.

Jedoch sollte man berücksichtigen, dass ein Aufkonzentrieren einer kolloidalen Dispersion auch zu einem Ausfallen oder Agglomerieren der Partikel führen kann, es also nicht für alle Systeme geeignet ist.

Um den Faktor der Aufkonzentrierung bei dem verwendeten Fallfilmmikroreaktor zu bestimmen – welcher angibt, das Eluat im Vergleich zum Feed aufkonzentriert wurde – wurden gravimetrisch die tatsächliche Flussrate des Feedstrom und die jeweilige Flussrate des Eluats für alle untersuchten Reaktionsbedingungen (Feedflussrate, Temperatur, Stickstoffgegenstrom) gemessen (siehe Tabelle 10).

Der Faktor der Aufkonzentrierung ist der Quotient aus der Flussrate des Eluats geteilt durch die tatsächliche Flussrate des Feedstroms:

$$\text{Faktor der Aufkonzentrierung} = \frac{\text{Flussrate Eluat}}{\text{Flussrate tatsächlicher Feedstrom}} \quad (84)$$

Tabelle 10: Berechnung des Faktors der Aufkonzentrierung ausgehend von der tatsächlichen Flussrate des Feedstroms und der gravimetrisch bestimmten Flussrate des Eluats in Abhängigkeit der Flussrate des Feedstrom und des Stickstoffgegenstrom sowie der jeweiligen Temperatur.

eingestellte Flussrate (tatsächliche Flussrate) Feedstrom [mL/min]	Flussrate Eluat [mL/min]			Faktor Aufkonzentrierung			N ₂ -Gegenstrom [mL/min]
1,00 (0,99)	0,99	0,97	0,96	1,00	1,02	1,03	
	0,71	0,69	0,62	1,39	1,43	1,60	
	0,60	0,59	0,53	1,65	1,68	1,87	
	0,56	0,55	0,50	1,77	1,80	1,98	
2,00 (1,97)	1,97	1,91	1,81	1,00	1,03	1,09	
	1,55	1,49	1,37	1,27	1,32	1,44	
	1,31	1,24	1,20	1,50	1,59	1,64	
	1,24	1,23	1,16	1,59	1,60	1,70	
	1,16	0,96	1,00	1,70	2,05	2,00	
4,00 (3,93)	3,93	3,83	3,77	1,00	1,03	1,04	
	3,35	3,00	2,96	1,17	1,31	1,33	
	2,81	2,65	2,56	1,40	1,48	1,54	
	2,67	2,64	2,46	1,47	1,49	1,60	
			55 °C	60 °C	65 °C		
			Temperatur				

Anhand der Daten aus Tabelle 10 ist ein klarer Trend zu beobachten: je höher die Temperatur und je höher die Flussrate des Stickstoffgases sind, desto größer ist der Faktor der Aufkonzentrierung.

Bei allen drei eingestellten Feedstromflussraten (1 mL/min, 2 mL/min und 4 mL/min) wird bei der niedrigsten untersuchten Temperatur von 55 °C ohne angelegten Gasgegenstrom die Lösung nicht aufkonzentriert. Die höchste Aufkonzentrierung (um den Faktor 2,05) wird bei einer Feedstromflussrate von 2 mL/min, 60 °C und maximalem Stickstoffgegenstrom erzielt.

Vergleichbare Aufkonzentrierungsfaktoren werden sowohl bei gleicher Feedstromflussrate (2 mL/min), einer Temperatur von 65 °C und maximalem Stickstoffgegenstrom und damit einem Faktor von 2,00 als auch bei einer Feedstromflussrate von 1 mL/min, 65 °C und einem Stickstoffgegenstrom von lediglich 650 ml/min mit dem Faktor 1,98 erreicht.

Betrachtet man ausschließlich den Faktor der Aufkonzentrierung hat der Stickstoffgegenstrom einen größeren Einfluss als die Temperatur.

Bisher wurden der Anteil an evaporiertem THF und der Faktor der Aufkonzentrierung diskutiert. Da es sich bei Wasser-THF um ein azeotropes Gemisch handelt, wird im Folgenden eine Bilanzierung des verdampften Wassers diskutiert.

Durch die Dichtemessungen des Eluats konnten nach Erstellung einer Kalibrierkurve der Gehalt an THF und damit auch direkt der Anteil an Wasser bestimmt werden. Berücksichtigt man nun noch die Ausgangskonzentration an Wasser sowie die Flussraten von Feedstrom und Eluat, lässt sich daraus der prozentuale Anteil an verdampftem Wasser berechnen (siehe Tabelle 11).

Tabelle 11: Anteil des verdampften Wasser in Abhängigkeit der Flussrate des Feedstrom und des Stickstoffgegenstrom sowie der jeweiligen Temperatur.

eingestellte Flussrate (tatsächliche Flussrate) [mL/min]	Anteil an evaporiertem Wasser [%]			N ₂ -Gegenstrom [mL/min]
1,00 (0,99)	0	2,0	3,0	
	5,7	3,1	13,0	
	13,4	15,0	25,6	
	19,1	20,8	29,8	
2,00 (1,97)	0	3,0	8,1	
	5,2	1,1	7,3	
	10,7	12,5	15,1	
	13,2	11,0	17,1	
	18,0	29,9	28,0	
4,00 (3,93)	0	2,5	4,1	
	1,6	8,8	3,2	
	9,1	10,5	8,4	
	11,6	7,4	10,8	
55 °C			60 °C	65 °C
			Temperatur	

Genau wie schon bei dem Anteil an verdampften THF und der Aufkonzentrierung ist auch bei der Bilanzierung des Wassergehalts im Eluat ein klarer Trend erkennbar (siehe Tabelle 11). Wie zu erwarten war, nimmt der Anteil an verdampftem Wasser sowohl bei Erhöhung der Temperatur als auch bei steigenden Flussraten des Stickstoffstroms zu; bei zunehmender Flussrate des Feedstroms sinkt der Anteil an verdampftem Wasser.

4.1.6 Vergleich der experimentellen Daten mit der Simulation

Abschließend erfolgt ein Vergleich der experimentell gewonnenen Ergebnisse mit denen der Modellberechnungen, um somit eine Aussage über die Vorhersagekraft des Modells hinsichtlich der Reaktionsparameter treffen zu können.

Die berechneten Daten sind als durchgezogene Linien in Abbildung 56 eingezeichnet und zeigen eine gute Übereinstimmung mit den experimentellen Daten über den gesamten Bereich der betrachteten Reaktionsparameter. Die Überschätzung des Volumenflusses des Eluats bei hohem Stickstoffstrom ist vermutlich auf eine Beeinflussung der flüssigen Phase durch den Gasstrom zurück zu führen, wie z.B. durch Ungleichverteilungen im Fluss, Trocknen eines Kanal oder Oberflächenenerneuerung sowie der Bildung von Wellen.

Im Folgenden wird beschrieben, wie die Anpassung des Modells erfolgte. Die Evaluation wurde in zwei Schritten durchgeführt. Im ersten Schritt wurde das differentielle Gleichungssystem (80) entlang der z-Koordinate integriert. Die Ergebnisse wurden dann an die gemessenen experimentellen Daten durch Variation des Korrekturfaktors angepasst. In Abbildung 57 sind 8 der 9 betrachteten Kombinationsmöglichkeiten der Flüssigkeitsflussrate (Q_L) und Temperatur aufgetragen. Für den Fall $Q_L = 1$ mL/min und $T = 65$ °C konnte kein eindeutiges Ergebnis evaluiert werden. Es hat sich gezeigt, dass der Korrekturfaktor im Bereich von 0,4 bis 1,2 ansteigt und lediglich von der Flüssigkeitsflussrate (Q_L) abhängig ist. Der Korrekturfaktor wächst linear und Q_L kann durch die Formel (85) beschrieben werden:

$$\text{corr} = 0.27891 \cdot Q_L [\text{mL/min}] + 0.15264. \quad (85)$$

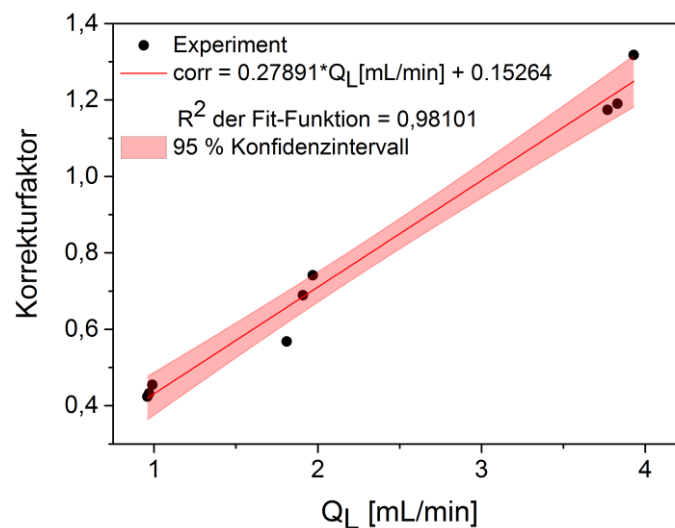


Abbildung 57: Korrekturfaktor ($\text{corr} = 0,27891 \cdot Q_L [\text{mL/min}] + 0,15264$) in Abhängigkeit der Flüssigkeitsvolumenstroms.

Im zweiten Schritt der Evaluation wurde die Wiederholung der Integration des differentiellen Gleichungssystem (80) unter Anwendung der Korrekturfaktoren, die durch den linearen Fit erhalten wurden, durchgeführt. F_L und F_G wurden durch die Integration von Formel (75) und (76) erhalten.

Wurde also einmal der Fit für den Korrekturfaktor für eine gegebene Reaktorgeometrie erstellt, kann das Modell dazu verwendet werden, Trends für das Strippingverhalten für unterschiedliche Reaktionsparameter (z.B. Temperatur, THF-Ausgangskonzentration, ...) zu bestimmen. Quantitativ exakte Vorhersagen sind jedoch kritisch, da sie stark von den Materialparametern abhängig sind. Daher müsste das Modell bei Verwendung anderer Materialsysteme spezifisch auf diese angepasst werden.

Darüber hinaus wurde das Modell auch zur Bestimmung der Anzahl an Übertragungseinheiten ($NTU = \text{number of transfer units}$) des Mikroreaktors genutzt.

Der Begriff NTU stammt aus dem Bereich der Wärmeübertragung und wird zur Auslegung von Wärme- oder Stoffübergängen verwendet. Dabei ist die NTU definiert über das Produkt des Stoffübergangskoeffizienten und der Übertragungsfläche pro Volumenstrom.

Die Anzahl der Übertragungseinheiten für den STACK-1x-FFMR-LAB-V2 wurde mittels des folgenden Quotienten berechnet:

$$NTU = \frac{y_{T|z=L} - y_{T|z=0}}{y_{T|z=L} - y_{T|equil}} \quad (86)$$

Wobei $y_{T|equil}$ anhand zweier nichtlinearer Gleichungssysteme mit Hilfe von ASPEN Plus™ berechnet wird. Die hieraus resultierenden Ergebnisse sind in Abbildung 58 aufgetragen.

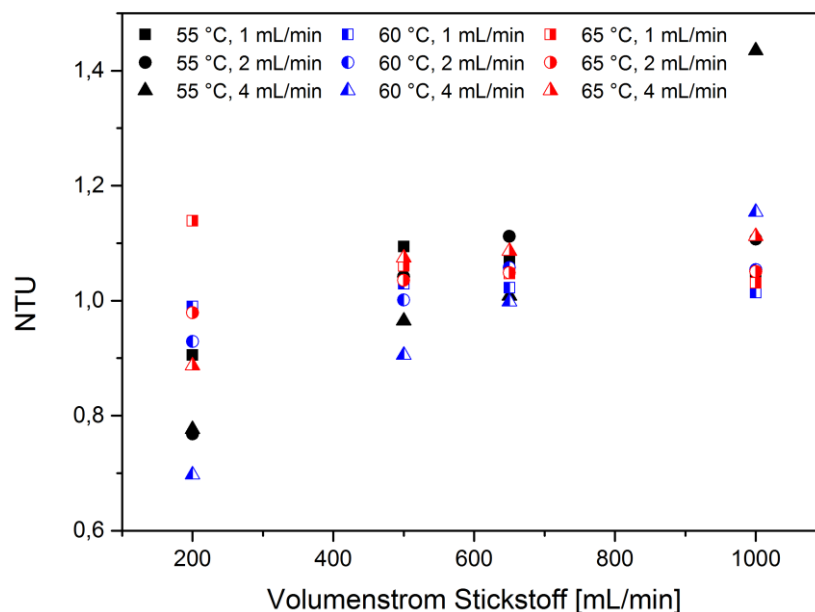


Abbildung 58: Anzahl der Übertragungseinheiten in Abhängigkeit vom Volumenstrom des Stickstoffs und der eingehenden Flüssigkeitsflussrate von ca. 1 mL/min, 2 mL/min und 4 mL/min bei Temperaturen von 55 °C, 60 °C und 65 °C.

Insgesamt betrachtet, kann man feststellen, dass die NTU bei ungefähr 1 liegt und mit zunehmendem Stickstoffstrom etwas ansteigt. Dies demonstriert den Nutzen und das Potential für das *Stripping* von Lösemitteln im Kontext des kontinuierlichen *Downstream Processing*; insbesondere für das *Scale-up* von Fallfilmmikroreaktoren.

Eine hochskalierte Version des Fallfilmmikroreaktors wurde bereits erfolgreich für Flüssigkeit-Gas-Reaktionen^[204–206] getestet. Daher wären bei einem Transfer des Strippingprozesses auf die größere Version des Reaktors deutlich höhere Durchflussmengen bei ähnlichem Strippingverhalten zu erwarten.

4.1.7 Schlussfolgerung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Leistungsfähigkeit des STACK-1x-FFMR-LAB-V2 in Bezug auf das kontinuierliche Stripping von THF aus einem THF-Wasser-Gemischs untersucht. Dafür wurde der Massentransfer für das Stripping mit Stickstoff bei unterschiedlichen Reaktionsparametern (Temperatur, Flüssigkeits- und Gasflussrate) gemessen.

Bei einer Durchflussmenge von 1 mL/min des Feedstroms konnte bei allen drei untersuchten Temperaturen (55 °C, 60 °C und 65 °C) ab einem Stickstoffgegenstrom von 500 mL/min ein vollständiges Abdampfen des THF erzielt werden. Wurde die Durchflussmenge des Feedstroms auf 2 mL/min eingestellt, konnte bei 65 °C und maximalem Stickstoffgegenstrom das THF ebenfalls vollständig abgedampft werden. Ein Restgehalt an THF von < 1 % wurde bei 65 °C und einem Stickstoffgegenstrom von 650 mL/min und bereits bei 60 °C bei einem Stickstoffgegenstrom von 1000 mL/min erreicht. Bei der höchsten Feedflussrate von 4 mL/min wurde immerhin bei 65 °C und einem Stickstoffgegenstrom von 650 mL/min der THF-Gehalt auf unter 2 % reduziert.

Ausgehend von der Arbeit von Mouschou et al.^[173], die sich mit dem Verdampfen eines reinen Lösungsmittels befasst hat, wurde in Zusammenarbeit mit Dres. Karl-Peter Schelhaas und Sabine Alebrand ein Massentransfermodell zur Beschreibung des Strippingprozesses eines binären Systems entwickelt.

Die gute Übereinstimmung der experimentellen und simulierten Daten erlaubt es, das Modell für die Vorhersagen für erforderliche operative Parameter zum Stripping von THF aus einem THF-Wasser-Gemischs mittels eines STACK-1x-FFMR-LAB-V2 zu verwenden.

4.2 Semikontinuierliche Isolierung von Pluronic® L121-Polymersomen unter Verwendung des Fallfilmmikroreaktors

Im Rahmen der Dissertationen von Dr. Raphael Thiermann^[116] und Dr. Regina Bleul^[120] wurde basierend auf amphiphilen Blockcopolymeren die Selbstorganisation nanoskaliger Polymerstrukturen mit Hinblick auf die Entwicklung von Wirkstoffträgersystemen untersucht.

Durch Verwendung von statischen Mikromischern konnten kontinuierlich u.a. biokompatible, multifunktionelle Polymersome aus Pluronic® L121 mit einer niedrigen Polydispersität hergestellt werden. Eine Stabilisierung der ansonsten sehr instabilen Vesikel konnte erfolgreich durch eine hydrophobe *In-situ*-Beladung erzielt werden.^[116]

Die Herstellung basiert dabei auf dem Prinzip der Co-Lösungsmethode mit THF als gutem Lösungsmittel und Wasser als selektivem Lösungsmittel. Da der Prozess sehr gut zu kontrollieren ist, wurde er ausgewählt, um im Rahmen dieser Arbeit, die Fähigkeit des Fallfilmmikroreaktors STACK-1x-FFMR-LAB-V2 zum Abdampfen eines Lösungsmittels aus einem Lösungsmittelgemischs im Rahmen eines *Downstream Processings*, aufbauend aus den Erkenntnissen aus Kapitel 4.1, an einem konkreten Prozess/kolloidalem System zu überprüfen. Parallel dazu wurde jeweils noch eine Probe diskontinuierlich im Batch abgedampft, um eine gleichbleibende Güte der Vesikel beim kontinuierlichen Abdampfen zu verifizieren.

4.2.1 Herstellungsmethoden und Anwendungsbeispiele von Polymersomen

Pluronic® ist der Markenname für die Poloxamere, die in den 1950 Jahren von der BASF entwickelt wurden und unter dem sie bis heute vermarktet werden. Poloxamere sind amphiphile Blockpolymere aus Poly(ethylenoxid) (=PEO) (= Poly(ethylenglycol) = PEG) als hydrophiler und Poly(propylenoxid) (=PPO) als hydrophober Block.

Pluronic®-Polymere sind biokompatibel und nicht toxisch.^[207,208] Zwar sind die PEO-PPO-PEO Blockpolymere biologisch nicht abbaubar, aber aufgrund einer gewissen Löslichkeit können sie bis zu einem Molekulargewicht von 10-15 kg/mol sogar langsam über die Niere ausgeschieden werden.^[209,210]

Die Löslichkeit der Pluronic® Blockpolymere in Wasser ist sowohl abhängig von der Struktur, also der jeweiligen Länge des hydrophilen und des hydrophoben Blocks, als auch der betrachteten Temperatur.^[211] Eine Erhöhung der Temperatur führt durch Dehydratisieren zu einer verringerten Löslichkeit.^[211]

Die CMC-Werte der typischerweise für *Drug delivery* verwendeten Pluronic®-Blockpolymere liegen bei Körpertemperatur (37 °C) in einem Bereich zwischen 1 µM bis 1 mM (ca. $5 \cdot 10^{-3}$ bis 1 wt%).^[211] Der CMC-Wert hängt ab von der Länge des PPO Blocks und der Länge der PEO Blöcke.^[211–213]

Die Zulassung etlicher Poloxamere durch die US-Behörde FDA (engl. *Food and Drug Administration*, dt. Lebensmittelbehörde) für verschiedene Anwendungen – z.B. als Emulgatoren in einer Vielzahl an kosmetischen Produkten^[214] oder auch in medizinischen Formulierungen von hydrophoben Nanotherapeutika wie Interferonen (Rebif®)^[215] – macht sie für die Forschung im biomedizinischen Bereich äußerst interessant.^[208,211,216–218] Aufgrund der strengen Zulassungsregularien und den damit verbundenen enormen Kosten für neue Medikamente, erhöht die Entwicklung von Wirkstoffträgersystemen auf der Basis bereits zugelassener Materialien die Chance, den hohen Anforderungen im Rahmen der klinischen Studien zu entsprechen.^[120]

In der chemisch-technischen Industrie werden Pluronic®-Polymere als schaumdämpfende nichtionische Tenside zum Emulgieren und Dispergieren eingesetzt.^[219]

Die Tendenz der Selbstorganisation von Pluronic®-Polymere variiert je nach Größe der Blöcke und dem Verhältnis von PEO zu PPO zueinander.^[120] Die treibende Kraft dahinter ist die hydrophobe Interaktion des PPO-Blocks.^[211] Untersuchungen mit Triblockcopolymeren mit dem Aufbau PEO-PPO-PEO und einem hohen hydrophilen Anteil zeigen, dass diese dazu neigen in Wasser mizellaren Strukturen mit einer hydrophilen PEO-Hülle und einem hydrophoben PPO-Kern zu bilden.^[220,221]

Das in dieser Arbeit verwendete Pluronic® L121 ist ebenfalls ein Triblockcopolymer aus Poly(ethylenoxid)-*block*-Poly(propylenoxid)-*block*-Poly(ethylenoxid), allerdings mit einem sehr geringen Anteil von nur 10 % an PEO und damit relativ hydrophob. Pluronic® L121 besitzt jeweils 5 Wiederholungseinheiten EO und 68 Wiederholungseinheiten PO. Der HLB-Wert wird vom Hersteller je nach Blocklängenverhältnissen mit 1 – 7 angegeben.^[222]

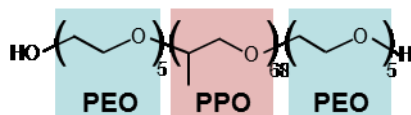


Abbildung 59: Strukturformel von Pluronic® L121 mit farblicher Kennzeichnung der hydrophilen Poly(ethylenoxid)-Blöcke (PEO) in Blau und des hydrophoben Poly(propylenoxid)-Blocks in Rot.^[120]

Das Phasenverhalten zeigt die Tendenz zur Bildung von lamellaren Strukturen und eignet sich dadurch besonders gut zur Darstellung von Polymersomen.^[120]

Diese Vesikel bestehen aus einem hydrophilen inneren Kompartiment sowie einer hydrophoben äußeren Membran, die den Innenraum umschließt. Hierdurch bieten diese Systeme gute Voraussetzungen um unterschiedliche Wirkstoffkomponenten zu lösen und zu transportieren.^[120]

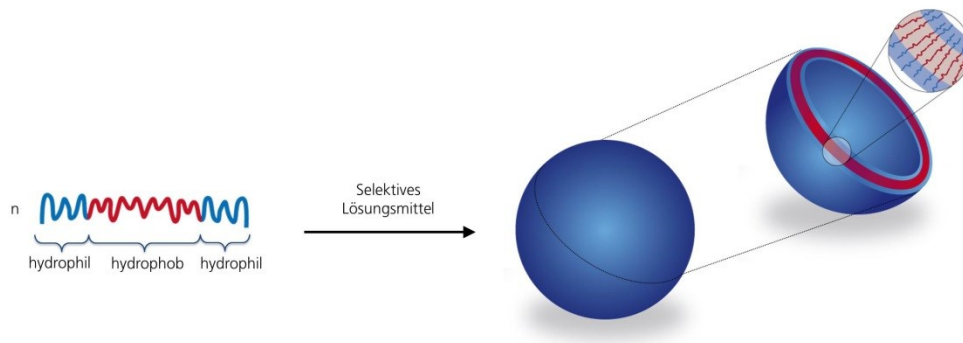


Abbildung 60: Schematische Darstellung eines Blockcopolymers und der daraus aufgebauten Struktur eines Polymersoms und einem Querschnitt zur Verdeutlichung der Struktur.^[120]

Bei Polymersomen handelt es sich um die künstliche Nachbildung von biologischen vesikulären Strukturen durch amphiphile Blockpolymere. Das natürliche Vorbild für derartige Strukturen sind Liposome, die aus Phospholipiden aufgebaut sind.

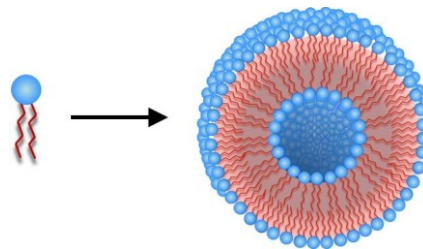


Abbildung 61: Schematische Darstellung der Struktur eines Liposoms.^[120]

Der Begriff „*Polymersom*“ stammt aus einer Verschmelzung der Begriffe „*Polymer*“ und „*Liposom*“. Aufgrund der guten Kontrolle bei der Darstellung haben Polymersome gegenüber ihren natürlichen Analoga, den Liposomen, eine deutlich größere Variabilität sowie eine erhöhte chemische und physikalische Stabilität.^[223–226]

Es gibt unterschiedliche Methoden, die zur Herstellung von Polymersomen genutzt werden und von den Techniken zur Liposomen-Herstellung abgeleitet sind.^[120]

Bei der Filmrehydratation (siehe Abbildung 62) wird eine kleine Menge an Polymer in einem guten Lösungsmittel für beide Polymerblöcke gelöst. Durch Abdampfen des Lösungsmittels kommt es zu einer Filmbildung. Im nächsten Schritt wird zu dem getrockneten Film Wasser gegeben und dieser durch Energiezufuhr in Form von Schütteln, Rühren oder Ultraschall wieder von der Wand des Gefäßes abgelöst und zerkleinert.

Zwar ist es möglich mit diesem Herstellungsprozess uni- und multilamellare Vesikel herzustellen, jedoch weisen diese meistens eine breite Größenverteilung auf.^[227,228]

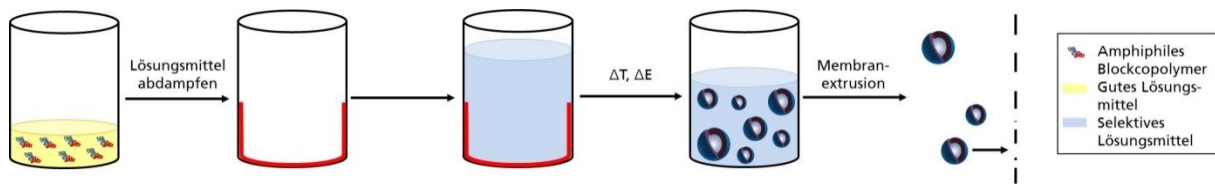


Abbildung 62: Schematisch Darstellung des Prozesses der Filmrehydration.^[120]

Bei der Elektroformation wird ebenfalls zuerst ein dünner Polymerfilm dargestellt, diesmal allerdings direkt auf den Elektroden. Durch ein oszillierendes elektrisches Feld erfolgt anschließend der Vorgang der Rehydration in Wasser. Mit dem Verfahren ist es möglich sehr große unilamellare Vesikel im Mikrometermaßstab (engl.: *GU* = *giant unilamellar vesicles*) mit relativ enger Größenverteilung zu erzeugen.^[120]

Eine weitere Möglichkeit zur Herstellung von Polymersomen ist die Detergenz-Methode. Hierbei wird das Polymer mit Hilfe eines Detergenzes in Wasser dispergiert. Durch Dialyse wird das Detergenz nach der Bildung der Polymersomen wieder entfernt.^[229]

Bei der Nanopräzipitation (siehe Abbildung 63), auch als Co-Lösungsmittelmethode bezeichnet, wird das Polymer in einem organischen, wassermischbaren Lösungsmittel gelöst. Diese Polymerlösung wird dann in Wasser als selektives Lösungsmittel – welches ein Lösemittel für den hydrophilen, aber ein Nichtlösemittel für den hydrophoben Block darstellt – getropft und somit eine Strukturbildung induziert. Abschließend wird das organische Solvent durch Dialyse oder Verdampfen entfernt. Es ist möglich diesen Prozess auch invers durchzuführen. Dabei wird die Polymerlösung vorgelegt und unter Rühren sukzessive Wasser zugegeben bis eine Strukturbildung stattfindet. Auch bei dieser Vorgehensweise ist es in der Regel notwendig, das Lösungsmittel aus der Polymersomen-Dispersion zu entfernen.^[230,231]

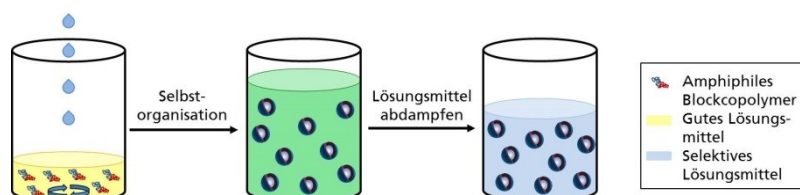


Abbildung 63: Schematisch Darstellung der Co-Lösungsmittelmethode.^[120]

Als ein Modell für amphiphile Polymere wird häufig das nicht-bioabbaubare Blockcopolymer Polybutadien-*block*-Polyethylenoxid (PB-PEO) verwendet.^[120] Mit PB-PEO ist es möglich Vesikelstrukturen durch Filmrehydratation zu erhalten oder auch mit der Co-Lösungsmittelmethode, indem sukzessive Wasser zu der Polymerlösung (in THF) zugegeben wird.^[120]

Die Herstellung von Polymersomen aus Pluronic® L121 stellt verglichen damit eine Herausforderung dar. Durch den hohen hydrophoben Anteil (90 %) und der daraus resultierenden Molekülgeometrie neigt das Polymer zur Bildung von größeren lamellaren Strukturen; die Bildung von Vesikeln, vor allem kleinerer Vesikel mit hoher Krümmungsenergie ist dagegen thermodynamisch nicht bevorzugt.^[232,233] Dies führt in der Kombination mit dem hohen CMC-Wert (engl. *critical micelle concentration*, dt. kritische Mizellbildungskonzentration) des Polymers dazu, dass die Vesikel nur wenige Stunden bis Tage stabil sind.^[116]

Mit Hilfe der Doppelemulsionsmethode gelang es Foster et al. Vesikel im Mikrometer-Bereich darzustellen.^[234] Die Herstellung kleinerer Vesikel mit Radien unter 100 nm erfolgte bisher meist in 2-stufigen Prozessen unter Verwendung von Ultraschall und anschließender Extrusion durch eine Polycarbonat-Membran mit definierter Porengröße.^[233,235]

Die Nutzung von Mikromischern zur kontinuierlichen Herstellung von Polymersomen aus PB-PEO wurde erstmals von Müller et al.^[236] im Jahr 2009 gezeigt. Darauf basierend entwickelte Raphael Thiermann^[116] die Methode weiter, optimierte sie und passte sie für Pluronic® L121 an. Das Herstellungsprinzip orientiert sich hierbei an der konventionellen Co-Lösungsmittelmethode, bei der ein kontrollierter Transfer des Polymers vom guten Lösungsmittel in ein selektives Lösungsmittel erfolgt.

Für die Auswahl des Co-Lösungsmittels ist es entscheidend, dass dieses sowohl für alle Blocksegmente des Polymers ein gutes Lösungsmittel darstellt als auch eine Beladung des Vesikels ermöglicht. Darüber hinaus sollte es unbegrenzt mit Wasser mischbar sein. Lösungsmittel, die diese Anforderungen für eine Vielzahl an Anwendungen erfüllen, sind beispielsweise DMSO und THF.

DMSO wird zwar oftmals in der Biologie eingesetzt, ist aber für die kontinuierliche Herstellung und Beladung von Pluronic® L121-Polymersomen mit Eisenoxid aus unterschiedlichen Gründen nicht geeignet.

Da DMSO nicht mischbar mit Alkanen ist, können somit Ölsäure-stabilisierte Eisenoxid-Partikel nicht gelöst werden und würden ausfallen.

Zudem besitzt DMSO eine vergleichsweise hohe Dichte ($1,1 \text{ g/cm}^3$) und Viskosität ($2,14 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$), wodurch die Vermischung mit Wasser bis zur Homogenisierung relativ langsam verläuft, bedingt durch eine langsame Diffusion. Auch der hohe Siedepunkt von $189 \text{ }^\circ\text{C}$ macht ein Entfernen des Co-Lösungsmittels über die Gasphase nach dem Vorgang der Nanopräzipitation deutlich schwieriger.

Im Gegensatz dazu hat THF eine deutlich geringe Dichte ($0,89 \text{ g/cm}^3$), Viskosität ($0,55 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$) und Siedepunkt ($66 \text{ }^\circ\text{C}$). Hierdurch wird ein deutlich schnelleres Mischverhalten in der mikrofluidischen Anlage gewährleistet. Auch die Eisenoxide, die in die Membran eingelagert werden sollen, sind in THF löslich.

Durch den kontinuierlichen Herstellungsprozess können Probleme und Nachteile herkömmlicher Batchverfahren minimiert bzw. unterbunden werden. Bei Arbeiten mit sehr hydrophoben Blockpolymeren und Komponenten, welche in die Vesikelmembran eingelagert werden sollen, besteht die Gefahr, dass diese bei Kontakt mit Wasser als selektives Lösungsmittel ausfallen. Erfolgt die Selbstorganisation der amphiphilen Blockpolymere genügend schnell, kann ein Ausfallen verhindert werden.

Neben der zugegebenen Polymermenge hat auch die Güte der Durchmischung beim Rühren einen großen Einfluss auf die Bildung der Vesikel. Durch das schnelle, kontrollierte Mischen können lokale Konzentrationsgradienten verringert werden und eine größere Reproduzierbarkeit erreicht werden. Bei den klassischen Batchverfahren ist der Durchsatz begrenzt und einzelne Ansätze können sich voneinander unterscheiden. Die kontinuierliche Prozessführung hat – wie der Name es bereits sagt – einen kontinuierlichen Durchsatz mit reproduzierbarer Qualität und bietet oftmals einfache Möglichkeiten, das Verfahren hoch zu skalieren.

Bleul et al. haben gezeigt, dass die Mikromischer-Technologie eine wertvolle und zuverlässige Methode ist, um mit Wirkstoff beladene, magnetische Polymersomen herzustellen.^[237,237,238] Dazu wurden höchst definierte Hybridpartikel hergestellt, basierend auf dem von der FDA zugelassenen Triblock-Polymer Pluronic® L-121. Es erfolgte eine *in-situ* Beladung der Vesikel sowohl mit magnetischen Nanopartikeln als auch mit dem Krebsmedikament Camptothecin.

Mittels TEM-Aufnahmen konnte die erfolgreiche Aufnahme der magnetischen Nanopartikel bestätigt werden. Über dynamische Lichtstreuung-Messungen wurde eine enge Größenverteilung der beladenen Vesikel gezeigt. Die Stabilität der Partikel in Anwesenheit von Serumproteinen wurde mit Vielwinkel-Lichtstreuung nachgewiesen.

Eine Studie zur Wirkstofffreisetzung von Bleul et al.^[239] zeigte, dass eine nachhaltige Freisetzung des Camptothecins über mehrere Tage hinweg bei starker Beladungseffizienz (100 µg/mL Camptothecin in der polymeren Formulierung) stattfindet. Während wirkstofffreie Vesikel keine Toxizität zeigten, kam es bei mit Camptothecin beladenen Polymersomen zu einer signifikanten Reduzierung der Viabilität von Prostatakrebszellen (PC-3) über einen Zeitraum von 72 Stunden.

Darüber hinaus wurden der Fluoreszenzfarbstoff Alexa Fluor® 647 und das Krebs-*targeting*-Peptid Bombesin kovalent an die Hybridpartikel gekoppelt. Anschließend wurde die spezifische Zellaufnahme der Vesikel mit konfokaler Mikroskopie und mit Durchflusszytometrie beobachtet.

Solche magnetischen Polymersomen besitzen großes Potential, um in Echtzeit ihre Biodistribution zu verfolgen. Dies liegt darin begründet, dass sie signifikante T2-gewichtete Kontraste bei der Kernspintomographie zeigen, welche über Relaxometrie-Messungen quantifiziert werden können.

4.2.2 Darstellung der wesentlichen Versuchsparmeter

Zur kontinuierlichen Darstellung von mit Eisenoxid-Nanopartikeln beladenen Pluronic® L121-Vesikeln wurde eine Polymerlösung in THF mit 10 g/L in einem Reservoir vorgelegt. Die hydrophoben Eisenoxid-Nanopartikel wurden ohne weitere vorherige Aufreinigung zu der Polymerlösung zugegeben und die Menge so gewählt, dass die Konzentration 25 % in Bezug auf die Polymerkonzentration betrug. In einem zweiten Reservoir befand sich Reinstwasser als selektives Lösungsmittel.

Die Polymer-Eisenoxid-Lösung und das Wasser wurden durch einen Raupenmischer im Verhältnis 1,5 : 10 (absolute Flussraten: 1,5 mL/min Polymer-Eisenoxid-Lösung, 10 mL/min Wasser). Die Versuchsdurchführung erfolgte in Anlehnung an die Arbeiten von Dr. Raphael Thiermann^[116] und Regina Bleul^[120].

Die hergestellten Vesikel wurden in einem Vorratsgefäß gesammelt und von dort aus, um das THF abzdampfen, über einen auf 60 °C temperierten STACK-1x-FFMR-LAB-V2^[198] Fallfilmmikroreaktor gepumpt.

Die Flussrate des Stickstoffgases wurde auf 650 mL/min über einen Gasflussregel eingestellt und im Gegenstrom zur Flussrichtung der Partikeldispersion angelegt. Das Eluat wurde in einer Schraubdeckelflasche gesammelt.

Konnte bei einer Geruchsprobe noch THF festgestellt werden, wurde es erneut bei gleichen Parametern (Flussrate, Temperatur, Stickstoffgegenstrom) über den Fallfilmmikroreaktor gepumpt und separat aufgefangen.

Als Referenz wurde jeweils noch ein Probengefäß zum Abdampfen bei Raumtemperatur so lange stehen gelassen, bis in der Probe kein THF mehr vorhanden war (Geruchskontrolle/ olfaktorischer Test). Die Geruchsschwelle von THF liegt bei 2 – 7,4 ppm.^[240]

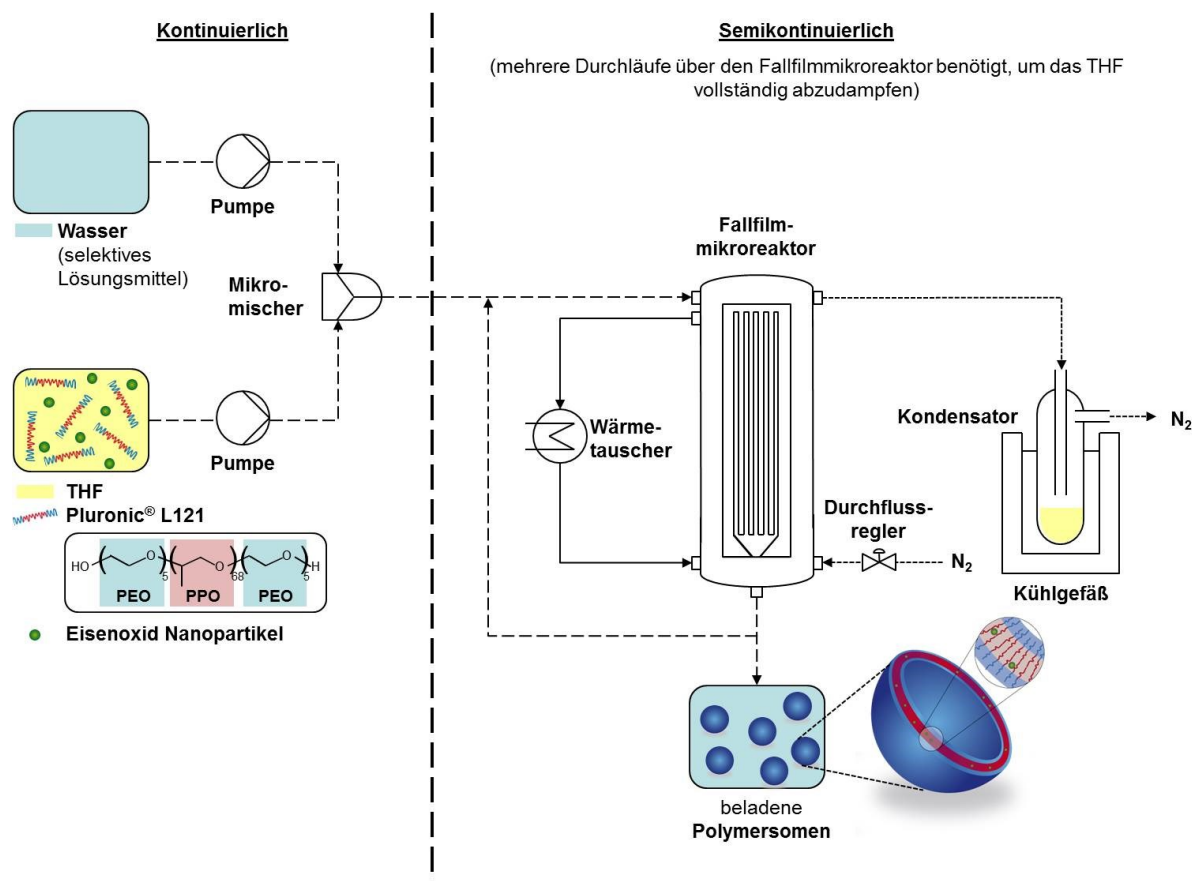


Abbildung 64: Fließschema zur kontinuierlichen Darstellung von Pluronic® L121-Nanopartikeln beladenen mit hydrophoben, magnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln über Nanopräzipitation und kontinuierlichem Abdampfen des THFs mittels des Fallfilmmikroreaktors.

Die Quantifizierung des Restgehalts an THF im Eluat erfolgte über Dichtemessungen. Dazu wurde die Probe bei 20.000 rpm (engl.: *revolutions per minute*, dt. Umdrehungen pro Minute) für 30 min zentrifugiert, um ein Abtrennen der Vesikel zu erreichen und anschließend die Dichte des Überstandes gemessen.

Die ausführliche Versuchsdurchführung wird in Kapitel 6.3.2 beschrieben.

4.2.3 Diskussion der Ergebnisse

Um die in Kapitel 4.1 charakterisierte Fähigkeit des Fallfilmmikroreaktors STACK-1x-FFMR-LAB-V2 zum Abdampfen eines Lösungsmittels aus einem Lösungsmittelgemisch an einem konkreten Beispiel zu überprüfen, wurde die kontinuierliche Herstellung von Polymersomen aus Pluronic® L121 ausgewählt. Dabei wurde der Prozess, wie in den Arbeiten von Dr. Raphael Thiermann^[116] und Dr. Regina Bleul^[120] beschrieben, in Bezug auf Mischer, Konzentration, Flussraten etc. durchgeführt.

Damit der Prozess aber tatsächlich für ein kontinuierliches *Downstream Processing* bei der Kolloiddarstellung einsetzbar ist, ist es zwingend notwendig, dass durch das schnelle Abdampfen keine grundlegenden Veränderungen der Eigenschaften und Qualität der Partikel, z.B. Aggregation oder ein Brechen der Dispersion stattfinden.

Der STACK-1x-FFMR-LAB wird in dem 2009 herausgegebenen „The catalogue“^[241] vom Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH mit einer Flussrate von 0,02 L/h – 0,12 L/h^[242] angegeben; dies entspricht 0,33 mL/min – 2 mL/min. Moschou et al.^[174] haben bei den Untersuchungen zur Verdampfung von Isopropylalkohol mit Flussraten im Bereich 1 mL/min – 10 mL/min gearbeitet.

Ausgehend von den Erkenntnissen aus Kapitel 4.1 wurde eine Flussrate von 4 mL/min für die Polymersomen-Dispersion gewählt. Damit konnte sichergestellt werden, dass kein temporäres Trockenfallen eines einzelnen Kanals stattfand, wodurch es dann zum Ausfallen und Ablagern von Feststoff im Kanal hätte kommen können. Bei Vorversuchen ist dies vereinzelt schon bei einer Flussrate von 2 mL/min und einem Stickstoffstrom ab 500 mL/min bzw. 650 mL/min aufgetreten.

Die Untersuchungen des STACK-1x-FFMR-LAB-V2 mit Wasser-THF-Gemischen haben gezeigt, dass bei einem Stickstoffstrom von 500 mL/min bzw. 650 mL/min sehr effektiv THF abgedampft werden kann und eine weitere Erhöhung des Gasstroms zu keiner deutlichen Steigerung mehr führt.

Allerdings waren bei einem THF-Ausgangsgehalt von etwa 30 Vol% in Wasser, einer Flussrate von 4 mL/min, einem Gasstrom von 500 mL/min bzw. 650 mL/min, bei 55 °C noch 8,5 Vol% THF, bei 60 °C noch 5 Vol% THF und bei 65 °C noch 1,4 Vol% THF im Eluat messbar. Bei der Herstellung der Pluronic® L121-Polymersomen beträgt die THF Konzentration nach dem Mischvorgang vor der Aufarbeitung jedoch lediglich 13 Vol%.

Da beladene Polymersome sehr vielversprechend für biomedizinische Anwendungen sind, bei denen es oft von Interesse ist temperatursensitive Strukturen zu verkapseln, musste ein Kompromiss zwischen der Effizienz des Verdampfungsprozess und moderaten Temperaturen für einen schonungsvollen Umgang mit den Vesikeln gefunden werden. Deswegen wurde bei einer Temperatur von 60 °C gearbeitet.

Pluronic® L121-Vesikel haben eine sehr dünne (3 - 5 nm)^[116] und flexible Membran, die sehr gut für Wasser und andere hydrophile Moleküle durchlässig ist.^[233]

Die Neigung zur Bildung lamellarer Strukturen mit geringer Krümmung in Kombination mit der hohen CMC des Polymers und der geringen Dicke der ausgebildeten Membran führt dazu, dass die Vesikel nur wenige Stunden bis Tage stabil sind^[116] und die zuerst sehr enge Größenverteilung mit der Zeit zunehmend polydisperser wird.^[232]

Bisher war die Einsatzfähigkeit sehr begrenzt, da die Membran zur Stabilisierung mit einem hydrophoben *Crosslinker* beladen werden musste. Die Vernetzung wird in der Regel durch UV-Bestrahlung oder Radikalstarter aktiviert. Durch das entstehende Netzwerk, welches die gesamte Schale durchdringt, wird eine Stabilisierung der Membran erreicht. Allerdings wird damit die ursprüngliche Natur des Vesikels ebenfalls verändert. Darüber hinaus sind derartige Stabilisatoren in der Regel nicht biokompatibel und machen das System somit uninteressant als Wirkstofftransporter oder Biomarker in biomedizinischen Anwendungen.^[116] Zusätzlich muss bedacht werden, dass potentielle zu transportierende Wirkstoffe empfindlich gegenüber UV-Strahlung oder Radikalen sein können.

Dr. Raphael Thiermann konnte in seiner Dissertation^[116] zeigen, dass die direkte Einlagerung hydrophober, superparamagnetischer Eisenoxid-Partikel zu einer Stabilisierung der Pluronic® L121-Vesikel führt, die sogar eine engere Größenverteilung besitzen als die unbeladener Polymersome.

Dies kann damit erklärt werden, dass durch die Beladung der hydrophoben Membran mit dem ebenfalls hydrophoben Eisenoxid die Hydrophobizität insgesamt gesteigert und dadurch ein Herausdiffundieren einzelner Polymerketten unterdrückt wird.^[116]

An Hand von Cryo-TEM Bildern konnte eine gleichmäßige Verteilung der Eisenoxid-Nanopartikel in der Vesikelmembran visualisiert werden.

Mit Hilfe dynamischer Lichtstreuung zeigte Dr. Raphael Thiermann^[116], dass Vesikel mit einer Eisenoxidkonzentration von 50 % im Verhältnis zum Polymer sogar über Monate hinweg stabil waren.

Wie schon im vorherigen Kapitel 4.1.3 beschrieben, eignen sich weder die ATR-IR-Spektroskopie noch die Gaschromatographie für einen quantitativen Nachweis des Restgehalts an THF im Eluat.

Deswegen wurden wässrige THF-Lösungen mit unterschiedlichem Gehalt an THF (50 %, 25 %, 10 %, 5 %, 2,5 %, 1 %, 0,5 %, 0,25 % und 0,1 %) hergestellt. Bei allen Proben wurde mit dem Mettler Toledo DE45 Biegeschwinger die Dichte gemessen.

Danach wurden die Proben bei 20.000 rpm für 30 min zentrifugiert und direkt erneut die Dichte gemessen. Dabei waren die Messergebnisse bis auf 5 Nachkommastellen identisch, bzw. unterschieden sich maximal in der 5. Nachkommastelle, und damit $\leq 0,1$ % Differenz des THF-Gehalts.

Als Schnelltest wurde olfaktorisch auf THF geprüft, wobei der Nachweis problemlos bis zu einer Untergrenze von 0,1 % gelingt. Laut Sicherheitsdatenblatt befindet sich die Geruchsschwelle von THF bei 2 – 7,4 ppm.^[240]

Beim Abdampfen des THF im semikontinuierlichen Modus über den Fallfilmmikroreaktor wurde nach jedem Durchgang ebenfalls mittels eines olfaktorischen Tests auf einen Restgehalt an THF kontrolliert. Bei jedem der drei Versuche waren fünf Durchläufe nötig bis kein THF mehr bei der Geruchskontrolle wahrgenommen wurde.

Um einen Referenzwert für die Güte der Partikel zu erhalten, wurde jeweils noch ein Probengefäß zum Abdampfen bei Raumtemperatur über Nacht stehen gelassen, bis in der Probe kein THF mehr vorhanden war (Geruchskontrolle). Dies dauerte etwa 12–18 Stunden.

Sobald THF olfaktorisch nicht mehr nachweisbar war, wurde die Probe – wie bereits im vorangehenden Abschnitt beschrieben – für 30 min mit 20.000 rpm zentrifugiert. Vom Überstand wurde dann dreimal die Dichte gemessen.

Diese betrug bei jeder einzelnen Messung exakt 0,99705 und war somit identisch mit der Dichte von Reinstwasser bei 25 °C.

Damit konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, sowohl mit dem Abdampfen im Batch durch einfaches Stehenlassen bei Raumtemperatur, aber auch durch den Einsatz des Fallfilmmikroreaktor im semikontinuierlichen Betrieb, THF vollständig aus der Pluronic® L121-Vesikel Dispersion zu entfernen.

Ein wichtiger Aspekt bei den Experimenten war es darüber hinaus nicht nur nachzuweisen, dass das THF aus der Dispersion mit Hilfe des Fallfilmmikroreaktors entfernt werden konnte, sondern auch dass sich bei dem schnellen Abdampfen keine Agglomerate bilden oder sich die Größenverteilung signifikant verbreitert.

Eine Agglomeration von Partikeln hat viele negative Folgen: zum einen führt sie zu einer deutlichen Verbreiterung der Größenverteilung und damit deutlichen Minderung der Güte. Des Weiteren kann es zu einem Ausfallen von Feststoff führen, der Kanäle oder Kapillaren zusetzt. Derartige Proben sind in der Regel nicht mehr für biologische Anwendungen einsetzbar. Zudem bewirkt eine Agglomeration durch makroskopische Fällung auch immer einen nicht unwesentlichen Materialverlust.

Die Partikelgröße der Polymersome wurde nach dem Abdampfen des THFs an unverdünnten Proben mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180° charakterisiert.

Tabelle 12: Vergleich der Partikelgröße der Pluronic® L121-Vesikel nach dem vollständigen Abdampfen von THF im Batch bzw. semikontinuierlich mit dem Fallfilmmikroreaktor gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® ohne Verdünnung bei einem Winkel von 180°.

	Vesikelgröße [nm]
THF abgedampft im Batch	95 ± 30
THF abgedampft mit Fallfilmmikroreaktor	94 ± 28

Die mittels Lichtstreuung gemessenen Partikelgrößen nach dem vollständigen Abdampfen von THF im Batch (95 nm ± 30 nm) bzw. semikontinuierlich (94 nm ± 28 nm) mit dem Fallfilmmikroreaktor zeigen, dass es zu keiner Änderung der Größe, Größenverteilung noch zu einer Agglomeration der Vesikel kommt, wenn das THF durch den Fallfilmmikroreaktor im Fluss entfernt wird.

Die enge unimodale Größenverteilung unter Vermeidung von Fällungsverlusten, ist ein klares Indiz dafür, dass das gesamte, eingesetzte Eisenoxid in die Vesikelmembran eingebaut wurde, da die starke Hydrophobie der durch Ölsäure stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikel in freier wässriger Lösung sofort zur Aggregation bzw. Fällung führen würde.

Da die Vesikel aufgrund ihrer dünnen Membran beim Trocknen instabil werden, wurden sie im Cryo-TEM vermessen. Dazu wurden die Proben in kondensiertem Propan unter Kühlen mit flüssigem Stickstoff Schock gefroren (Abkühlrate $\sim 10^{3-4}$ K/min). Mit dieser Methode kann durch die sogenannte Vitrifizierung das Auskristallisieren von Wasser verhindert werden.

Aufgrund des geringen Kontrastunterschiedes zwischen dem Polymer und dem Wasserfilm im Cryo-TEM kann man ausschließlich die Eisenoxid-Nanopartikel sehen.

Da diese, wie bereits oben beschrieben, in die Vesikelmembran eingelagert wurden und nicht frei vorliegen, können so die Vesikel indirekt visualisiert werden.

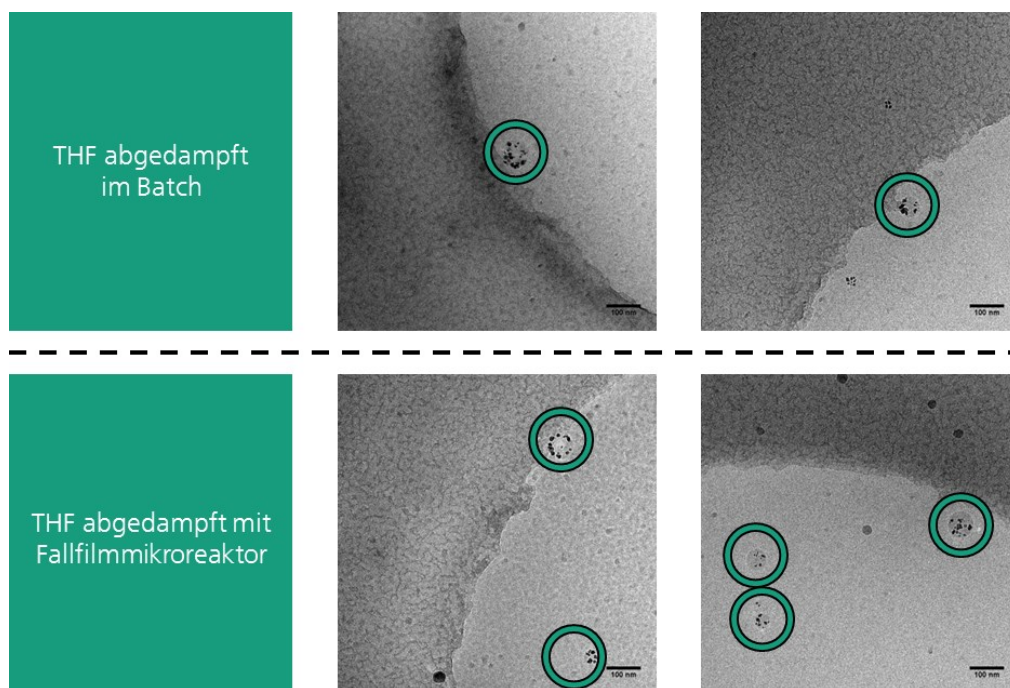


Abbildung 65: Cryo-TEM Bilder von Pluronic® L121-Polymersomen mit verkapselten magnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln, bei denen nach der kontinuierlichen Herstellung das THF im Batch (*oben*) bzw. semikontinuierlich (*unten*) mit Hilfe eines Fallfilmmikroreaktors abgedampft wurde.

Die Cryo-TEM Bilder zeigen eine gleichmäßige Verteilung der Eisenoxid-Nanopartikel innerhalb der Membran der Pluronic® L121-Vesikel.

4.2.4 Schlussfolgerung

Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass der Fallfilmmikroreaktor STACK-1x-FFMR-LAB-V2 erfolgreich zum semikontinuierlichen Abdampfen von THF als *Downstream Processing* nach der kontinuierlichen Herstellung von Pluronic® L121-Polymersomen eingesetzt werden kann.

Durch Verwendung eines statischen Mikromischers wurden im ersten Schritt durch Selbstorganisation des amphiphilen Blockcopolymers Polymersome mit einer niedrigen Polydispersität hergestellt. Die Vesikelbildung funktioniert nach dem Prinzip der Co-Lösungsmethode mit THF als gutem Lösungsmittel und Wasser als selektivem Lösungsmittel. Eine Stabilisierung der instabilen Strukturen erfolge durch die *In-situ*-Beladung mit hydrophoben Eisenoxid-Nanopartikeln. Die Reaktionsparameter wurden analog zu denen der Dissertationen von Dr. Raphael Thiermann^[116] und Dr. Regina Bleul^[120] eingestellt.

Um eine unveränderte Güte der Vesikel beim kontinuierlichen Abdampfen im Vergleich zur konventionellen Vorgehensweise (Stehenlassen bei Raumtemperatur) zu zeigen, wurde jeweils eine Referenzprobe diskontinuierlich im Batch abgedampft.

Anhand von Dichtemessungen konnte gezeigt werden, dass das THF vollständig aus der Vesikeldispersion entfernt werden konnte. Lichtstreuungsmessungen und Cryo-TEM Bilder bestätigen, dass es zu keiner Änderung der Größe der Vesikel oder der Güte der Dispersion im Vergleich zum Batchverfahren kommt.

4.2.5 Ausblick

Um den Fallfilmreaktor langfristig im *Downstream Processing* zum kontinuierlichen Abdampfen des selektiven Lösungsmittels einzusetzen, ist es notwendig, dass die Flussraten des Darstellungsprozesses und die Kapazität des Fallfilmmikroreaktors aufeinander abgestimmt und angepasst werden.

Das THF lässt sich nach der Herstellung der Pluronic® L121-Polymersomen relativ schlecht entfernen; es waren fünf Durchläufe über STACK-1x-FFMR-LAB-V2 bei 4 mL/min, 60 °C und 650 mL/min Stickstoff-Gegenstrom notwendig, um das Lösungsmittel vollständig zu entfernen.

Eine andere Möglichkeit könnte das *Upscaling*, also eine Vergrößerung bzw. Hochskalierung des Reaktors sein.

Speziell für den STACK-1x-FFMR-LAB existieren bereits zwei vom Fraunhofer IMM entwickelte hochskalierte Versionen des Fallfilmmikroreaktors mit der Kapazität für einen 10-fachen (STACK-1x-FFMR-LARGE) und 100-fachen (STACK-10x-FFMR-LARGE) Durchsatz (siehe Abbildung 66).

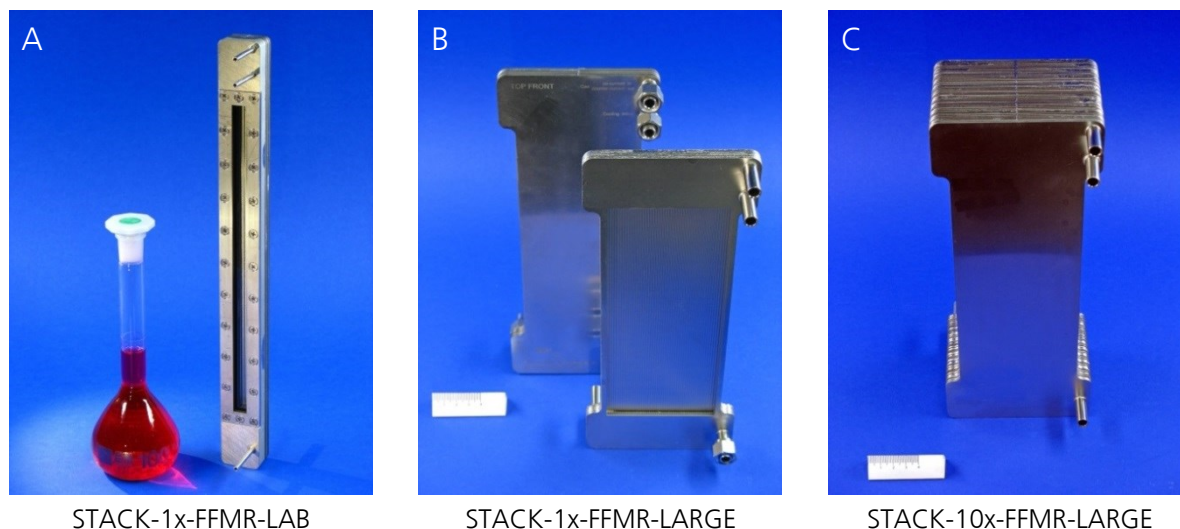


Abbildung 66: Der STACK-1x-FFMR-LAB (A) ist die Laborversion mit 1/10 an Durchsatz des STACK-1x-FFMR-LARGE (B), von dem es auch noch eine hochskalierte Version mit 10-fachem Umsatz gibt, den STACK-10x-FFMR-LARGE (C).

Die genauen Spezifikationen der drei Fallfilmmikroreaktoren sind in Tabelle 13 aufgeführt.

Tabelle 13: Spezifikationen der Fallfilmmikroreaktoren STACK-1x-FFMR-LAB^[242], STACK-1x-FFMR-LARGE^[242] und STACK-10x-FFMR-LARGE^[242]

Modellbezeichnung (STACK-...)	1x-FFMR-LAB	1x-FFMR-LARGE	10x-FFMR-LARGE
Größe (L x B x H) [cm]	294 x 28 x 19	296 x 118 x 12	296 x 118 x 75
Reaktionskanal (B x H) [μm]	1200 x 400	1200 x 400	1200 x 400
Reaktionskanal (L) [cm]	25	25	25
Anzahl Reaktionskanäle	5	50	500
Gasraum (H) [mm]	4	4	4
Gasraum (V) [mm^3]	7300	73000	730000
Material	Edelstahl 1.4571	Edelstahl 1.4571	Edelstahl 1.4571
Betriebstemperatur* [$^{\circ}\text{C}$]	180	Bis 800 @ 1 bar	Bis 800 @ 1 bar
Druckstabilität* [bar]	10	Bis 50 @ 25 $^{\circ}\text{C}$	Bis 50 @ 25 $^{\circ}\text{C}$
Flussrate [L/h]	$\sim 0,02 - 0,12$	$\sim 0,24 - 1,20$	$\sim 2,4 - 12,0$
Verweilzeit [ms]	$\sim 23 - 8$	$\sim 23 - 8$	$\sim 23 - 8$
Schichtdicke Flüssigkeitsfilm [μm]	$\sim 60 - 100$	$\sim 60 - 100$	$\sim 60 - 100$

*abhängig vom Anwendungsbereich und dem verwendeten Dichtungsmaterial

Für den hier durchgeführten Versuch, käme ein reines *Scale-up* mit den hier angeführten Modellen allerdings nicht in Frage, da die hochskalierten Modellen so designed wurden, dass trotz des deutlichen höheren Durchsatzes, die Reaktionsparameter (Länge, Dimension der Kanäle, Verweildauer etc.) konstant gehalten wurden.

Somit würde man bei einem *Scale-up* durch STACK-1x-FFMR-LARGE oder den STACK-10x-FFMR-LARGE zwar einen wesentlich höheren Durchsatz erzielen können, allerdings müsste auch mit entsprechend höheren Flussraten gearbeitet werden, um ein Trockenfallen einzelner Kanäle auszuschließen.

In den durchgeführten Versuchen hat sich gezeigt hat, dass fünf Durchläufe über den STACK-1x-FFMR-LAB-V2 notwendig waren, um das THF nach der Polymersomenherstellung vollständig zu entfernen.

Daher wäre ein sogenanntes *Numbering-up* eine relativ einfache Möglichkeit diesen semikontinuierlichen Prozess in einen kontinuierlichen zu überführen. Dies würde bedeuten, dass man anstatt die Dispersion fünf Mal über einen Fallfilmmikroreaktor zu pumpen, fünf Reaktoren in Reihe schaltet. Aufgrund der dabei immer abnehmenden Flussrate bedingt durch das Abdampfen könnte es sein, dass bereits vier Reaktoren in Reihe ausreichen würden.

Die Azeotropbildung von Wasser und THF Gemischen führt dazu, dass die Verdampfung von THF aus dem Gemisch immer auch gleichzeitig Wasseranteile entfernt. Daraus resultiert eine Aufkonzentrierung der Dispersion. Dies ist in diesem Fall aber ein positiver und durchaus erwünschter Effekt, da zur Präparation zunächst sehr verdünnt gearbeitet werden muss, um eine definierte Vesikelgröße bei möglichst geringer Polydispersität zu erhalten. Wünschenswert für viele potentielle Anwendungen ist aber eine höhere Konzentration, die eingesetzten Eisenoxid-Partikel vollständig in die Vesikelhülle einzubauen und dennoch Präzipitation zu vermeiden.

Das Verdampfen beinhaltet darüber hinaus die Möglichkeit zur Rückgewinnung des entfernten Lösungsmittels und damit einer Ressourceneinsparung und Prozessintensivierung. Die Herausforderung hierbei wird allerdings darin liegen, dass THF vom Wasser wirtschaftlich zu trennen. Eine Möglichkeit dafür würde zum Beispiel das Ausfrieren darstellen.

Eine elegantere Methode um eine aufwendige Aufreinigung zu sparen, wäre über eine Dichtemessung die Zusammensetzung des abgedampften Gemischs zu bestimmen und dieses soweit mit Wasser zu verdünnen, dass es erneut im Prozess eingesetzt werden kann.

4.3 Batch und (semi-) kontinuierliche Herstellung von PLGA-Nanopartikeln durch Nanopräzipitation

Um die Einsatzmöglichkeit des Fallfilmmikroreaktors bei der kontinuierlichen Herstellung von Nanopartikeln zu testen, wurden Poly(Lactid-co-Glycolid)-Partikel mittels der Nanopräzipitationsmethode im Batch, semikontinuierlich und kontinuierlich dargestellt.

4.3.1 Nanopräzipitation als Methode zur Herstellung bioabbaubarer Nanopartikel

PLGA ist die Abkürzung für Poly(Lactid-co-Glycolid). Das Copolymer ist aufgrund seiner Biokompatibilität und Bioabbaubarkeit und der Zulassung durch die US-Behörde FDA (*Food and Drug Administration*) vor allem für biomedizinische Anwendungen von enormem Interesse.

Tabelle 14: Natürliche und synthetische bioabbaubare Polymere.^[243,244]

Polymerklasse	Herkunft
Polysaccharide (z.B. Dextran, Cellulose, Chitin, Chitosan,...)	natürlich
Proteine (z.B. Kollagen, Fibrin, Gelatin, Albumin,...)	
Polyester (z.B. Polyglycolid, Polylactid, Poly(ϵ -Caprolacton,...)	synthetisch
Polyanhydride	
Polyharnstoffe	

Grundvoraussetzungen für die Bioabbaubarkeit sind chemische Bindungstypen, die idealerweise enzymatisch gespalten werden können; dazu zählen Ester-, Amid- und Acetalbindungen. Darüber hinaus müssen entstehende Abbauprodukte im Stoffwechsel von Bakterien und Pilzen verwertbar sein. Im Idealfall läuft der Metabolismus so vollständig ab, dass die Ausgangssubstanzen mineralisiert und in Kohlendioxid, Sauerstoff und Ammoniak zerlegt werden.

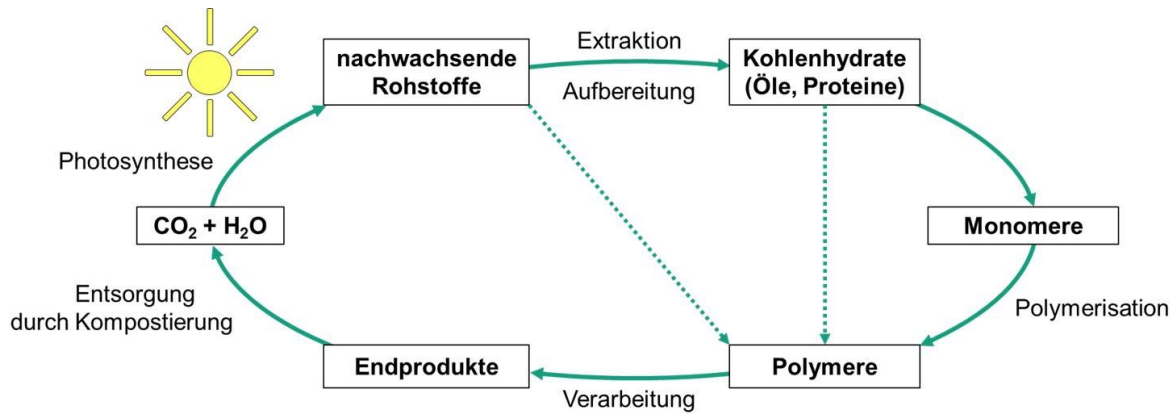


Abbildung 67: Schematischer Stoffkreislauf biologisch abbaubare Werkstoffe aus nachwachsenden Rohstoffen.^[245]

In den letzten Jahren entstand eine große Anzahl nanotechnologischer Ansätze zur Herstellung nanopartikulärer Trägersysteme aus PLGA.^[246] Sowohl die physikochemischen Eigenschaften, als auch die Bioabbaubarkeit und das *in vivo* Verhalten von PLGA kann durch Änderung des Molekulargewichts, des Lactid-zu-Glycolid-Verhältnisses oder der Endgruppen an die spezifischen Anforderungen der jeweiligen Anwendung angepasst werden.^[246]

Es gibt viele verschiedene Techniken zur Herstellung von PLGA-Nanopartikeln, die alle auf dem Emulsionsprinzip beruhen.^[247–249] Dazu zählen neben der Nanopräzipitation auch das mechanische Emulgieren oder das Emulgieren mit Hilfe einer Membran, das Aussalzen und die mikrofluidische Fokussierung.^[246] Dabei haben alle Methoden gemeinsam, dass das PLGA in der organischen Phase gelöst vorliegt und diese – entweder als Tröpfchen oder im Bulk – in einem Antisolvent dispergiert wird. Das Entfernen des organischen Lösungsmittels erfolgt normalerweise über Verdampfen, Extrahieren oder einer Kombination aus beidem. Jede Methode zur Nanoverkapselung hat ihre spezifischen Vor- und Nachteile.

Bei der Nanopräzipitation (oder auch Co-Lösungsmittelmethode) wird das hydrophobe Polymer in einem organischen, wassermischbaren Lösungsmittel gelöst und mit einem großen Überschuss an Wasser vermischt. Dabei kommt es zu einem spontanen Emulgieren und es bildet sich eine kinetisch stabilisierte Nanoemulsion. Bei diesem sogenannten Ouzo Effekt werden hydrophobe Agenzien als nanoskalige Tröpfchen oder Partikel in Wasser dispergiert.^[246] Da Wasser in der Regel ein Nichtlösemittel (Antisolvent) für organische Polymere darstellt, erfolgt Aggregation und damit kommt es zur Bildung von Nanopartikeln.

Von Fessi et al.^[250] wird diese Methode auch als Lösemittelverdrängung bezeichnet. Wichtig bei diesem Prozess ist, dass das Lösemittel in jedem Verhältnis mit Wasser mischbar ist und sowohl ein gutes Lösemittel für das Polymer darstellt als auch einfach durch Verdampfen und/oder Extrahieren nach der Partikelbildung wieder entfernt werden kann.^[248,251] Gängige hierfür verwendete Lösungsmittel sind Aceton, Acetonitril, Dimethylacetamid, Dimethylformamid (DMF), Dimethylsulfoxid (DMSO), 2-Pyrrolidon, *N*-methyl-2-pyrrolidon, Polyethylenglykol und Tetrahydrofuran (THF).^[246] Darüber hinaus finden vereinzelt auch binäre Lösungsmittelgemische Anwendung, wie zum Beispiel Aceton-Ethanol.

Die Größe sowie die Verkapselungseffizienz von PLGA-Partikeln, die über die Nanopräzipitation hergestellt werden, sind abhängig von einer Reihe von Faktoren. Dies sind neben dem gewählten organischen Lösungsmittel, das PLGA-Polymer (Größe, Zusammensetzung, Polydispersität,...), das Verhältnis von Polymer zu verkapselnder Substanz, das Tensid, das Mischungsverhältnis von organischer Phase zum Antisolvent. Auch die Art des Mischens spielt eine Rolle bei der Qualität der erzeugten Partikel, da der Lösungsmittelaustausch in einer uneinheitlichen Umgebung mit großen lokalen Konzentrationsgradienten erfolgt. Gerade für diese Problemstellung sind Mikromischer besonders geeignet, da sie sehr kontrolliert und reproduzierbar mischen. Die etablierten Möglichkeiten des Mischens sind:

- 1) Zugabe in einer einzigen Portion:
 - a) des Antisolvents zu der organischen Phase oder
 - b) der organischen Phase zu dem Antisolvent.
- 2) Kontrollierte tröpfchenweise Zugabe:
 - a) des Antisolvents zu der organischen Phase oder
 - b) der organischen Phase zu dem Antisolvent.
- 3) Dialyse der organischen Phase gegen das Antisolvent.

Der Mischvorgang bei der Nanopräzipitation erfordert keinen hohen Energieeintrag, große Scherung oder hohen Druck, da die Bildung der Nanopartikel durch die spontane Diffusion des organischen Lösungsmittels ins Wasser getrieben wird.^[246]

Ein Vorteil der Nanopräzipitation sind die kleineren Partikelgrößen im Vergleich zu denen des Emulsions-Lösungsmittelverdampfungs/-extraktions Prozesses. Darüber hinaus können nicht halogenierte Lösungsmittel genutzt werden um das Polymer zu lösen.

Diese sind im Allgemeinen weniger toxisch und deutlich umweltfreundlicher als die Lösungsmittel die beim Emulsions-Lösungsmittelverdampfungs/-extraktions Prozess eingesetzt werden (Chloroform, Dichlormethan).

Der größte Nachteil dieser Methode ist allerdings, dass er auf einen sehr engen Bereich der Zusammenstellung von Polymer und Lösungsmittel zum Antisolvent begrenzt ist, der sogenannten Ouzo Region.^[246,252,253] Außerhalb dieser Region kommt es eher zur Bildung von Mikro- als Nanopartikeln.

4.3.2 Darstellung der wesentlichen Versuchsparmeter

Das Darstellungsprinzip der Nanopartikel aus PLGA (Poly(D,L-lactid-co-glycolid)) basiert auf der Methode der Nanopräzipitation.

PLGA wurde mit unterschiedlichen Konzentrationen (0,25 wt%, 1 wt%, 2 wt% und 3 wt%) in THF gelöst. In allen Versuchen wurde Wasser mit 3 wt% SDS (Natriumdodecylsulfat) als Antisolvenz zur Fällung verwendet. In unterschiedlichen Versuchen wurden verschiedene Mischverhältnisse der beiden Phasen (1:3, 1:5 und 1:7 organische zu wässrige Phase) hergestellt.

Für die Herstellung von PLGA-Nanopartikeln im Batch wurde die wässrige Phase vorgelegt und gerührt. Dazu wurde unter Rühren die organische Phase zugegeben. Bei der Zugabe trübte sich das Gemisch unmittelbar. Um das THF abzdampfen, wurden die Proben auf einer temperierbaren Schüttelplatte für 3 h auf 40 °C erwärmt.

Abbildung 63 in Kapitel 4.2.1 zeigt eine schematische Darstellung der Co-Lösungsmittelmethode.

Bei der semikontinuierlichen sowie der kontinuierlichen Herstellung der PLGA-Nanopartikeln erfolgte ein kontinuierliches Mischen der organischen PLGA-Lösung mit Wasser durch einen Mikromischer (SIMM-V2). Es wurde eine Gesamtflussrate für beide Phasen zusammen von 4 mL/min eingestellt.

Die Proben wurden nach dem Mischer gesammelt und das THF – analog zum Batchverfahren – für 3 h bei 40 °C auf einer temperierbaren Schüttelplatte abgedampft.

Bei der kontinuierlichen Herstellung erfolgt auch das Abdampfen des THFs kontinuierlich durch einen Fallfilmmikroreaktor (STACK-1x-FFMR-LAB-V2) im direkten Anschluss an das Mischen. Der Fallfilmmikroreaktor wurde bei 65 °C und mit einem Stickstoffgegenstrom von 650 mL/min betrieben. Nach Durchlaufen des FFMRs war der olfaktorische Nachweis von THF in der Probe negativ.

Abbildung 68 zeigt schematisch den Aufbau zur kontinuierlichen Darstellung der PLGA-Nanopartikel durch Nanopräzipitation mittels Mikrotechnologie.

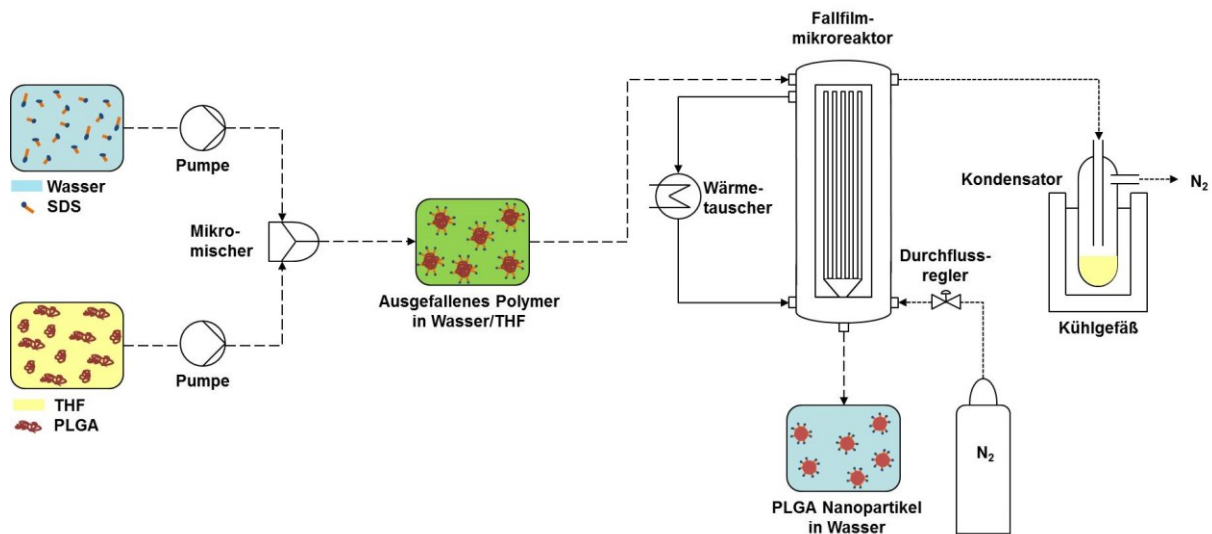


Abbildung 68: Fließschema zur kontinuierlichen Darstellung von PLGA-Nanopartikeln über Nanopräzipitation und kontinuierlichem Abdampfen des THFs mittels des Fallfilmmikroreaktors.

4.3.3 Diskussion der Ergebnisse

In Abbildung 69 sind die mittleren gemessenen Durchmesser, der mit der Nanopräzipitationsmethode hergestellten PLGA-Nanopartikel graphisch in Abhängigkeit von der jeweiligen Prozessführung (Batch, semikontinuierlich, kontinuierlich), der PLGA Konzentration in THF (0,25 wt%, 1 wt%, 2 wt% und 3 wt%) und der Mischverhältnisse (1:3, 1:5 und 1:7 der organischen zur wässrigen Phase) dargestellt.

Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde auf eine zusätzliche Darstellung der Fehlerbalken verzichtet. Der Fehler bzw. die Abweichung der Partikelgrößen beträgt unter allen Herstellungsbedingungen, sowohl für die Batchmethode als auch für den (semi-) kontinuierlichen Prozess, 25 % - 35 %.

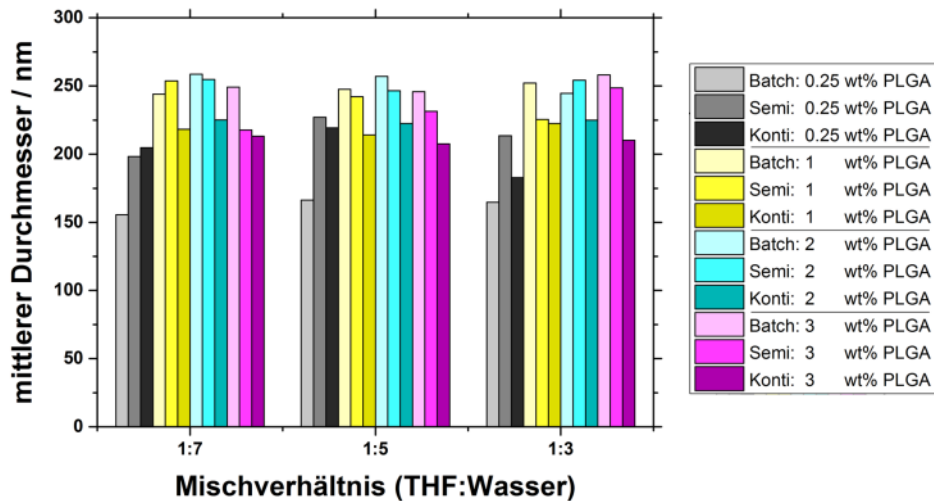


Abbildung 69: Vergleich der mittleren Durchmesser von PLGA-Nanopartikeln, die durch Nanopräzipitation dargestellt worden sind, in Abhängigkeit von der Polymerkonzentration und dem Mischverhältnis im Batch und bei (semi-) kontinuierlicher Prozessführung.

In Tabelle 15 werden die Zahlenwerte der mittleren Durchmesser sowie die jeweilige dazugehörige mittlere Abweichung in der Partikelgröße aufgelistet. Die Partikelgrößen wurden mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180° gemessen.

Tabelle 15: Vergleich der mittleren Durchmesser und der mittleren Abweichung gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180° von PLGA-Nanopartikeln, die durch Nanopräzipitation dargestellt worden sind, in Abhängigkeit von der Polymerkonzentration und dem Mischverhältnis und der Herstellungsmethode (Batch, semikontinuierliche oder kontinuierliche Prozessführung).

		Polymerkonzentration in THF [wt%]					
		0,25	1	2	3		
Mischverhältnis	1:7	155,7 ± 59,0	244,1 ± 83,8	258,6 ± 101,4	249,2 ± 105,6	Batch	Prozessführung
		198,2 ± 65,8	253,7 ± 78,0	254,7 ± 92,2	217,8 ± 79,5	Semi	
		204,7 ± 71,0	218,2 ± 69,2	225,1 ± 74,6	213,2 ± 66,7	Konti	
	1:5	166,3 ± 63,6	247,6 ± 84,5	257,1 ± 108,6	245,9 ± 106,3	Batch	
		227,0 ± 77,9	242,1 ± 84,0	246,5 ± 99,2	231,5 ± 84,4	Semi	
		219,3 ± 71,0	214,1 ± 77,1	222,5 ± 81,2	207,5 ± 68,4	Konti	
	1:3	164,7 ± 65,4	252,2 ± 98,8	244,6 ± 119,1	258,1 ± 109,6	Batch	
		213,5 ± 76,0	225,5 ± 89,8	254,2 ± 105,7	248,6 ± 99,0	Semi	
		182,9 ± 70,0	222,5 ± 76,0	224,9 ± 83,2	210,2 ± 74,5	Konti	
		Partikelgröße [nm]					

Aufgrund der Polydispersität der Partikel ist kein grundlegender Unterschied zwischen den Herstellungsprozessen und den einzelnen Prozessparametern zu benennen; einige Trends fallen jedoch ins Auge.

Es muss hier erwähnt werden, dass im Unterschied zu allen Batchpräparationen, sowohl bei der semikontinuierlichen als auch der kontinuierlichen Prozessführung, jede makroskopische Fällung vermieden wurde. Dies muss auf den Mischvorgang selbst zurückgeführt werden: bei der Batch-Methode erfolgt das Mischen unter Rühren der wässrigen Tensidphase und kontrollierter Zugabe des in THF gelösten Polymers per Hand. Dadurch kommt es an den Eintropfstellen zu großen lokalen Konzentrationsunterschieden. Zudem ist dieses Verfahren im Bezug auf die Reproduzierbarkeit den kontinuierlichen Verfahren deutlich unterlegen, da bei diesen der Mischvorgang mit genau einzustellenden Flussraten in höchst präzisen Mikrostrukturen stattfindet und hochreproduzierbare Prozessparameter bietet.

Am auffälligsten bei den aus Abbildung 69 ersichtlichen Trends sind die mit einer Größe von ~ 160 nm deutlich kleineren Proben bei der Batchherstellung und einer sehr geringen Konzentration an PLGA (0,25 wt%) im Gegensatz zu allen anderen Proben die einen Durchmesser größer 200 nm haben.

Sobald die Polymerkonzentration im organischen Lösungsmittel ≥ 1 wt% ist, haben die mit dem komplett kontinuierlichen Verfahren – kontinuierliches Mischen und kontinuierliches Abdampfen – hergestellten PLGA-Partikel immer den kleinsten mittleren Durchmesser sowie die geringste Abweichung bei der Größenverteilung im Vergleich zum semikontinuierlichen Prozessieren oder der Darstellung im Batch.

Sowohl die im Batch als auch die mit dem semikontinuierlichen Verfahren hergestellten Partikel haben oftmals einen ähnlichen mittleren Durchmesser. Dabei sind die diskontinuierlichen hergestellten Nanopartikel jedoch meist etwas größer und weisen eine im Vergleich verbreiterte Größenverteilung auf.

Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass nicht nur der Mischvorgang an sich für die Größe und Qualität der Partikel entscheidend ist, sondern auch der Prozess des Abdampfens. Beim Abdampfen des organischen Lösungsmittels durch Einsatz eines Fallfilmmikroreaktors wird innerhalb weniger Sekunden das THF komplett abgedampft, während dies beim Batch bzw. dem semikontinuierlichen Prozess mehrere Stunden dauert.

Die Charakterisierung der hergestellten PLGA-Partikel erfolgte mittels Lichtstreuung und Transmissionselektronenmikroskopie.

Wie bereits aus den Ergebnissen der Lichtstreuemessungen zu erwarten war, lieferten die TEM-Bilder für alle Partikel ähnliche Partikelgrößen und -verteilungen.

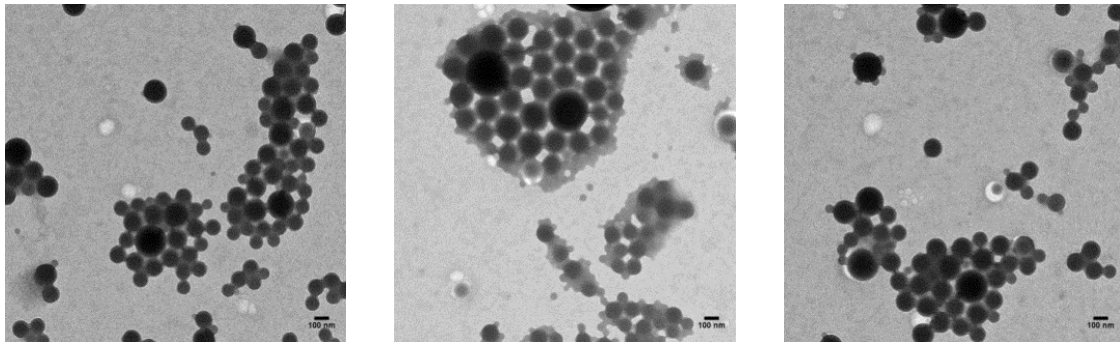


Abbildung 70: TEM-Bilder von PLGA-Nanopartikeln, die kontinuierlich durch Nanopräzipitation dargestellt worden sind, bei einer Ausgangskonzentration von 1 wt% (*links*), 2 wt% (*Mitte*) und 3 wt% (*rechts*) PLGA in THF und einem Mischverhältnis der THF-Phase zur wässrigen Phase von 1:3.

Zusammengefasst konnte anhand der durchgeführten Experimente gezeigt werden, dass sich die im Batch bzw. (semi-) kontinuierlichen durch Nanopräzipitation dargestellten PLGA-Nanopartikel miteinander vergleichen lassen. Die kontinuierlichen Verfahren führen dabei unter den meisten Reaktionsbedingungen (Polymerkonzentration in THF ≥ 1 wt%) zu etwas kleineren Partikeln mit geringfügig schmalerer Größenverteilung. Aufgrund der Größenverteilung, die bei allen Proben ca. 25 % - 35 % Radienpolydispersität aufweist, kann dies aber nur als semiquantitativer Trend gewertet werden.

4.3.4 Schlussfolgerung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Herstellung von PLGA-Nanopartikeln mit der Nanopräzipitationsmethode im Batch und mit (semi-) kontinuierlicher Prozessführung untersucht. Dafür wurden unterschiedliche Reaktionsparameter (Polymerkonzentration im organischen Lösungsmittel sowie das Mischverhältnis der organischen zur wässrigen Phase) untersucht. Unter den gewählten Flussraten (insgesamt 4 mL/min) konnten bei dem kontinuierlichen Verdampfen THF vollständig aus dem Produkt entfernt werden.

Dieser Vorgang kann im Vergleich zum diskontinuierlichen Abdampfen (Rühren im temperierten Wasserbad für mehrere Stunden) innerhalb weniger Sekunden abgeschlossen werden.

Die gemessenen Partikelgrößen zeigen die Tendenz, dass das kontinuierliche Mischen der organischen mit der wässrigen Phase gegenüber der manuellen Zugabe der Polymerlösung zum Antisolvent zu einer etwas kleineren Partikelgröße mit einer engeren Größenverteilung führt.

Die einzige Ausnahme hierzu bildet die Batchsynthese bei einem PLGA Anteil von 0,25 wt% in THF bei allen drei untersuchten Mischverhältnissen. Dabei entstehen mit 160 nm kleinere Partikel als bei allen anderen Reaktionsbedingungen mit zwischen 200 nm und 250 nm liegenden Partikelgrößen. Allerdings ist anzunehmen, dass der erhebliche Materialverlust durch Fällung im Batch-Verfahren zu diesem Ergebnis beiträgt.

Ein klarer Vorteil sowohl des kontinuierlichen als semikontinuierlichen Prozessierens gegenüber der Batchmethodik ist, dass bei der Herstellung der PLGA-Partikel im Batch in jedem einzelnen Experiment makroskopische Aggregate ausgefallen sind, die die Ausbeute an Nanopartikeln verringert haben und durch Filtration abgetrennt werden mussten, während es hingegen bei der (semi-)kontinuierlichen Prozessführung in keinem der durchgeführten Experimente zur Bildung makroskopischer Aggregate gekommen ist.

Dies zeigt, dass der Vorgang des Mischens einen wesentlichen Einfluss auf die Qualität und Ausbeute bei der Partikelherstellung hat. Im kontinuierlichen Verfahren wird höchst effizient und definiert gemischt, bei der Batchherstellung hingegen kommt es zu großen lokalen Konzentrationsunterschieden bei Zugabe der Polymerlösung zum Antisolvent.

4.4 Kontinuierliche Prozessführung zur Herstellung polymerbasierter Nanopartikeln mittels Miniemulsionstechnik durch Kombination von Mikromischern, Ultraschalldurchflusszelle und Fallfilmmikroreaktor

Die Entwicklung eines kontinuierlichen Prozesses zur Darstellung polymerbasierter Nanopartikel basierend auf einer Kombination der Miniemulsionstechnik in Verbindung mit der Lösungsmittelverdampfungsmethode, der sogenannten „*emulsion solvent evaporation technique*“, wird im Folgenden beschrieben.

Diese Technik stellt ein wertvolles Verfahren dar, um eine breite Palette polymerbasierter funktioneller Verbundwerkstoffe im submikrometer Bereich herzustellen.^[254–257] Bisher bestehen konventionelle Laboraufbauten lediglich aus einem Becherglas und einem Rührer oder einer Ultraschallsonotrode.^[255,258] Dies bedingt aber Schwierigkeiten bei der Reproduzierbarkeit und vor allem bei einer Produktion im vergrößerten Maßstab. Zur Lösung dieser Schwierigkeiten eignen sich insbesondere kontinuierliche Prozesse.

Im Hinblick darauf wurde im Rahmen dieser Arbeit ein kontinuierlicher Prozess entwickelt und ein Laboraufbau etabliert, mit dem polymerbasierte Nanopartikel reproduzierbar mit definierten Eigenschaften unter kontinuierlichen Bedingungen herzustellen waren.

Der Aufbau mit Entwicklung, Planung und Umsetzung wird in Kapitel 4.4.2 beschrieben und anschließend erfolgt in Kapitel 4.4.3 ein energetischer und ökonomischer Vergleich des kontinuierlichen Verfahrens mit der etablierten Batch-Methode.

Durch die Verwendung eines statischen Mikromischers gefolgt von einer Durchflussultraschallzelle wird eine Miniemulsion mit gut definierter Tröpfchengröße erzeugt. Direkt im Anschluss erfolgt das Verdampfen des Lösungsmittels der kontinuierlichen Phase effizient und im Fluss mit einem Fallfilmmikroreaktor. Als Produkt erhält man eine wässrige Nanopartikeldispersion.

Um den Einfluss einzelner Reaktionsparameter (Polymer- und Tensidkonzentration, Molekulargewicht, Mischverhältnis) auf die resultierende Partikelgröße und deren Reproduzierbarkeit zu untersuchen, wurde Polystyrol als Referenzpolymer verwendet.

Im nachfolgenden Kapitel (siehe 4.5) wird darüber hinaus die Darstellung unterschiedlichster Hybridpartikeln mit dem im Rahmen dieser Arbeit entwickelten kontinuierlichen Aufbaus beschrieben.

4.4.1 Darstellung polymerbasierter Nanopartikel mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik

Eine der größten Herausforderungen der modernen Kolloidchemie ist das Design und die Herstellung so genannter smarter Materialien für medizinische Anwendungen, im Gesundheitssektor und zur Einsparung von Energie und Ressourcen.^[256]

Mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik lassen sich Nanopartikel und -kapseln herstellen, die speziell an Anwendungen mit hohen Anforderungen an die verwendeten Materialien bezüglich Reinheit und Toxizität angepasst sind, wie zum Beispiel in der Biomedizin oder der Elektronik.^[256]

Die Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik ist eine einfache und schnelle Methode zur Herstellung einer Vielzahl unterschiedlichster Mikro- und Nanopartikel und Mikro- und Nanokapseln. Diese Methode stellt eine interessante Möglichkeit zur Herstellung komplexer Nanopartikel dar, die die Tröpfchen einer Miniemulsion als Schablone für Partikel nutzt, die durch anschließendes Verdampfen des Lösungsmittels gebildet werden.^[256] Bei einer Miniemulsion handelt es sich um ein stabiles kolloidales System ohne signifikanten Massentransfer zwischen den einzelnen Tröpfchen.^[256]

Das Funktionsprinzip basiert darauf, dass ein bereits fertig polymerisiertes Polymer oder eine Mischung unterschiedlicher Polymere in einem geeigneten guten Lösungsmittel gelöst werden, um dann mit einem anderen nicht-mischbaren Lösungsmittel, welches Tensid enthält, vermischt und emulgiert zu werden. Anschließend kann das Lösungsmittel durch Erwärmen oder durch das Anlegen eines schwachen Vakuums entfernt werden und eine Dispersion stabilisierter Nanopartikel wird erhalten (siehe Abbildung 71).^[259]

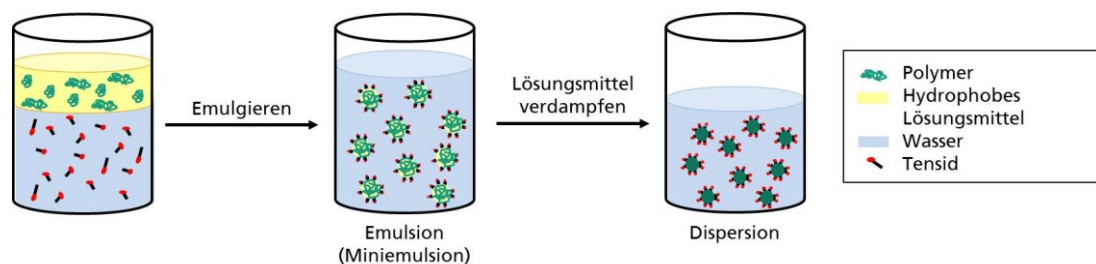


Abbildung 71: Schematische Darstellung der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik.

Die Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik ist eine alternative Methode zur Herstellung dispergierter Nanopartikel und -kapseln, wenn aufgrund der notwendigen Reaktionsbedingungen die etablierten Methoden der Emulsions-^[260,261], Miniemulsions-^[262] oder Mikroemulsionspolymerisation^[263,264] nicht angewendet werden können.

Des Weiteren hat diese Methode gegenüber den Heterophasenpolymerisationen den entscheidenden Vorteil, dass es nicht notwendig ist, in einem weiteren Aufreinigungsschritt aus der hergestellten Dispersion Restmonomer und/oder Initiator/Katalysator zu entfernen, was immer auch eine Destabilisierung der Partikel verursachen kann.^[256] Dies gilt natürlich nur, wenn das verwendete vorher synthetisierte Polymer vor dem Einsatz in der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungsmethode bereits aufgereinigt wurde.

Die Nachteile der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik sind die in der Regel relativ breite Größenverteilung von 20 % - 50 % der Partikel bzw. Kapseln, der üblicherweise geringe Feststoffanteil der Dispersion sowie das noch vorhandene Tensid.^[256]

Die erste Publikation dieser Herstellungsmethode stammt von Burton und O'Farrell aus dem Jahr 1977.^[265] Bereits ein Jahr zuvor wurde von Vanderhoff et al. ein Patent auf diesen Prozess unter Nennung zahlreicher möglicher Beispiele angemeldet, welches 1979 erteilt wurde. Seitdem wurde diese Technik hauptsächlich im Bereich der pharmazeutischen Wissenschaft genutzt, um Wirkstoffe in bioabbaubaren Polymeren^[266,267] vor allem im Mikrometermaßstab^[268] zu verkapseln.

Obwohl der Hauptteil der Publikationen sich mit Herstellung von Mikropartikeln befasst, gibt es ebenfalls Literatur über Partikel und Kapseln im Nanometermaßstab.^[256] Um solche kleine Kolloide zu erhalten wird oftmals Ultraschall verwendet, um möglichst kleine Tröpfchen zu erzeugen.^[249] Durch den Eintrag der Ultraschallwellen wird Kavitation erzeugt, welche zu hohen Scherkräften und Mikroturbulenzen führt.

Meistens wird Wasser als kontinuierliche Phase genutzt^[256], aber es wurde auch über inverse Systeme mit Wasser als Lösungsmittel berichtet^[269,270], sowie über nicht-wässrige Emulsionen^[271] wie zum Beispiel Dimethylformamid in Paraffin^[272], Dichlormethan in fluoriertem Lösungsmittel für Mikropartikel^[273] oder Ameisensäure in Paraffin für Nanokapseln^[274].

Heutzutage wird der Prozess dazu genutzt, um sowohl Mikro- und Nanopartikel als auch Mikro- und Nanokapseln aus einem breiten Spektrum unterschiedlicher Polymere herzustellen.^[256]

Dabei sind Polymere mit bestimmten spezifischen Eigenschaften von besonderem Interesse, wie zum Beispiel bioabbaubare^[255,275,276], halbleitende^[277] oder stimuli-responsive^[278] Materialien.

Darüber hinaus werden derartige Kolloide dazu genutzt, um eine große Vielzahl unterschiedlicher Materialien wie beispielsweise magnetische Nanopartikel^[279], Biomaterialien^[280], perfluorierte Kohlenstoffe als Kontrastmittel zur Ultraschall-Bildgebung^[281,282], Farbstoffe^[283] oder Wirkstoffe für selbstheilende Materialien^[284,285] in ihrem Inneren zu verkapseln.

Es ist möglich, unterschiedliche Arten von Polymermischungen und -typen wie die Mischung verschiedener Polymere^[277,286–288], statistische Copolymere^[285] und Blockcopolymere^[278,289–292] in diesem Prozess zu verwenden.

Eine der entscheidendsten, aber auch kritischsten Eigenschaften von Nanopartikeln ist ihre Größe und deren Verteilung. Somit gebührt der Kontrolle der Größe höchste Aufmerksamkeit und Priorität. Da die Partikel ausgehend von Tröpfchen gebildet werden, ist ihre Größe auch stark abhängig von der Größe der Ausgangströpfchen. Im Falle der Miniemulsion ist die Tröpfchengröße abhängig von der Tensidkonzentration.^[293] Darüber hinaus wird die Tröpfchengröße aber auch von der Art des Lösungsmittels^[294], der Rührgeschwindigkeit und der Zeit sowie Intensität des Ultraschalleintrags^[295] beeinflusst. Ein längerer bzw. intensiverer Emulgierungsprozess erzielt in einem begrenzten Umfang meist kleinere und enger verteilte Partikel.^[295] Allerdings ist es schwierig, den Einfluss eines konkreten Parameters zu beschreiben, da die Parameter nicht unabhängig voneinander sind.^[256]

Die physikalischen Prozesse, die für die Destabilisierung einer Emulsion und damit für deren finale Größe verantwortlich sind, sind die Ostwald Reifung und die Koaleszenz von Tröpfchen. Durch die Zugabe einer kleinen Menge einer Chemikalie, eines sogenannten osmotisch aktiven Agens, welches nur in der dispergierten Phase sehr gut löslich ist, kann die Ostwald Reifung unterdrückt werden.^[89] Diese Chemikalie wird deshalb als osmotisch aktives Agens bezeichnet, da sie ohne chemische Veränderungen hervorzurufen und das System zu beeinflussen einen osmotischen Druck innerhalb des Tröpfchens aufbaut und dadurch dem LaPlace Druck des Tröpfchens entgegenwirkt.^[256] Hierdurch wird eine Stabilisierung der Emulsion erreicht.

Im Falle der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik wird normalerweise kein zusätzliches osmotisch aktives Agens zur Unterdrückung der Ostwald Reifung verwendet, da das verwendete, gelöste Polymer selbst unlöslich in der kontinuierlichen Phase ist und somit als osmotisch aktives Agens wirkt.^[256]

Allerdings muss die Konzentration des Polymers über einem spezifischen Grenzwert liegen, um tatsächlich die Ostwald Reifung unterbinden zu können.^[296] Andrew Loxley und Brian Vincent haben vermutet, dass die relativ breite Größenverteilung bei der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik durch Koaleszenz der Tröpfchen bedingt ist.^[297] Anhand von DLS Messungen, bei denen sowohl die Tröpfchengröße in Emulsion als auch die Größe der resultierenden Partikel gemessen wurde, konnte der Koaleszenz unter bestimmten Bedingungen eine wichtige Rolle bei der Partikelbildung zugeschrieben werden.^[298]

Erst kürzlich konnte mit Hilfe von dual-color fluorescence cross-correlation spectroscopy-Messungen (DC-FCCS) von Staff, Schaeffel et al.^[299,300] gezeigt werden, dass bei einer ausreichenden Stabilisierung der Tröpfchen der Anteil der Koaleszenz nicht signifikant ist (siehe Abbildung 72). Die genaue Versuchsdurchführung wird im Folgenden näher erläutert:

Es wurden zwei Emulsionen hergestellt, bei denen jeweils ein anderes Polymer in dem hydrophoben Lösungsmittel der dispersen Phase gelöst wurde; die kontinuierliche Phase bestand immer aus Wasser mit Tensid. Beide Polymere waren jeweils mit einem anderen Farbstoff markiert. In einer dritten Emulsion wurden die beiden Sorten an Farbstoff-markierten Polymeren gemeinsam im hydrophoben Lösungsmittel gelöst und dann erst mit Wasser emulgiert.

Diese Versuchsführung gestattete die Präparation einer Positivprobe bei der beide Polymere im hydrophoben Lösungsmittel gelöst wurden und dann erst emulgiert, sowie von zwei Negativkontrollen mit jeweils nur einem der markierten Farbstoffpolymere. Diese beiden Negativkontrollen wurden nach dem Abdampfen zu einer finalen Negativkontrolle zusammengemischt.

Für die „aktuelle Probe“ wurden hingegen die beiden Emulsionen mit jeweils nur einem Farbstoff/Polymer vor dem Abdampfungsschritt vermischt und nach dem Abdampfen sowohl mit der Positiv- als auch der Negativkontrolle verglichen (siehe Abbildung 72A). Von allen Nanopartikeldispersionen wurde anschließend DC-FCCS-Messungen durchgeführt (Abbildung 72B).

Der Anteil an mit zwei Farbstoffen markierten Nanopartikeln betrug in der „aktuellen Probe“ lediglich 10 %.^[300] Damit wurde gezeigt, dass kaum Koaleszenz auftritt, da ansonsten bei allen Partikeln eine Markierung mit beiden Farbstoffen zu erwarten gewesen wäre. Aus diesem Ergebnis ergibt sich die Schlussfolgerung, dass kaum Koaleszenz auftritt und diese deswegen auch nicht für die relativ breite Größenverteilung der mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungs-technik hergestellten Nanopartikel verantwortlich ist.

Daher wird angenommen, dass die Polydispersität im Emulgierungsschritt begründet liegt und dieser noch besser untersucht und optimiert werden muss, um möglichst monodisperse Teilchen zu erhalten.^[256]

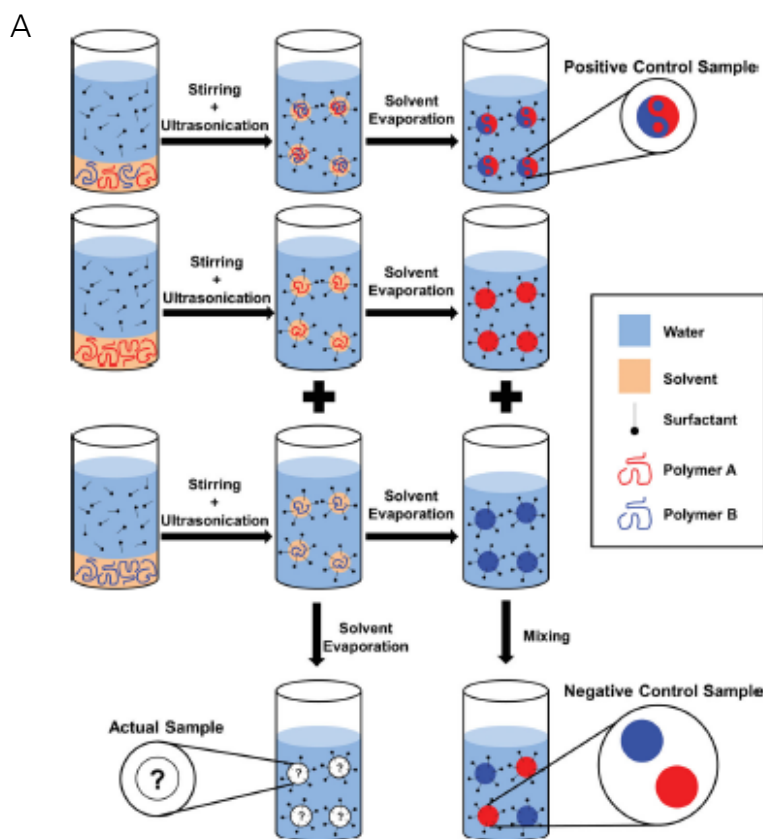


Figure 4. Scheme of the preparation of the samples for both DC-FCCS and FRET investigations. The colors represent two different polymers or two differently labeled polymers.

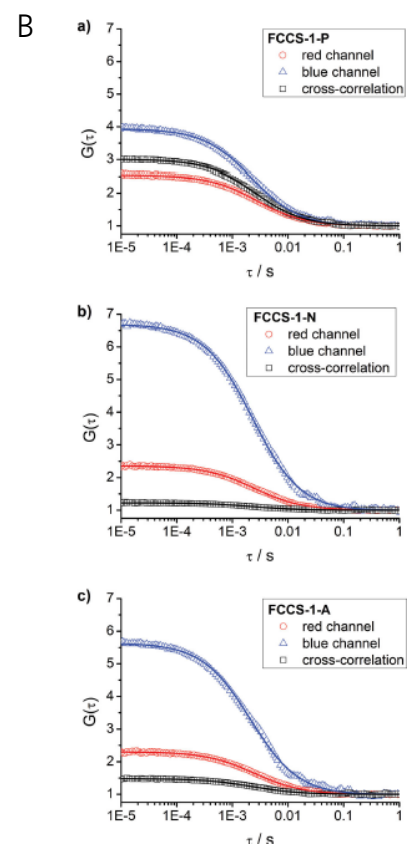


Figure 6. Correlation curves (scattered symbols) and corresponding fits (lines) of the DC-FCCS samples FCCS-1-P (a), FCCS-1-N (b), and FCCS-1-A (c).

Abbildung 72: (A) Schematische Darstellung der Probenherstellung für die Untersuchungen mit DC-FCCS und FRET um eine Koaleszenz der Tröpfchen zu untersuchen.^[300] (B) Korrelationskurven (Symbole) und gefittete Funktionen (Linien) der DC-FCCS Messungen: (a) FCCS-1-P als Positivkontrolle, (b) FCCS-1-N als Negativkontrolle und (c) FCCS-1-A als aktuelle/tatsächliche Probe.^[300]

Chen et al. konnten zeigen, dass die Viskosität der Flüssigkeiten eine signifikante Rolle für die resultierende Morphologie von Hybridpartikeln bestehend aus Polystyrol (PS) und Poly(methylmethacrylate) (PMMA) hat.^[301]

Auch das Molekulargewicht von PS und PMMA spielt eine Rolle für die Morphologie der resultierenden Partikel.^[287] Darüber hinaus ist auch die Verdampfungs-temperatur und -rate von großer Bedeutung für die Bildung einer thermodynamisch metastabilen Partikelmorphologie.^[289,290,302]

Weiterhin kann die Emulsions-Lösungsmittelverdampfungs-technik aber auch genutzt werden, um Kolloide aus nicht-polymeren Materialien herzustellen, beispielsweise für anorganische Nanokristalle BaCrO_4 , welches zuvor in einem organischen Lösungsmittel dispergiert wurde.^[303,304] Dabei bilden sich beim Abdampfen nach dem Emulgierungsschritt sphärische Aggregate aus.^[256] Die Methode wurde auch ebenfalls schon dazu verwendet, um Nanomaterialien aus Manganferrit / Graphenoxid^[305] sowie mit siRNA beladene magnetische, metallische Nanopartikel^[306] herzustellen.^[256]

4.4.2 Aufbau einer Versuchsanlage im Labormaßstab

Die grundlegende Motivation dieser Arbeit war es, eine kontinuierliche Darstellungsmethode für polymerbasierte Nanopartikel zu entwickeln.

Nachdem die Emulsions-Lösungsmittelverdampfungs-technik als Methode zur Partikelherstellung ausgewählt wurde, sollte dieses Verfahren nun in einen kontinuierlichen Prozess überführt werden.

Der Batchprozess gestaltet sich aus zwei Schritten: dem Emulgieren und dem Verdampfen des Lösungsmittels. Soll diese Methode kontinuierlich durchgeführt werden, kann ein Aufsplitten des Emulgiervorgangs in zwei Schritte notwendig werden: Dem Zusammenführen beider Phasen und der Generierung einer Prä- oder Makroemulsion, die dann im Anschluss weiter zur Miniemulsion homogenisiert wird.

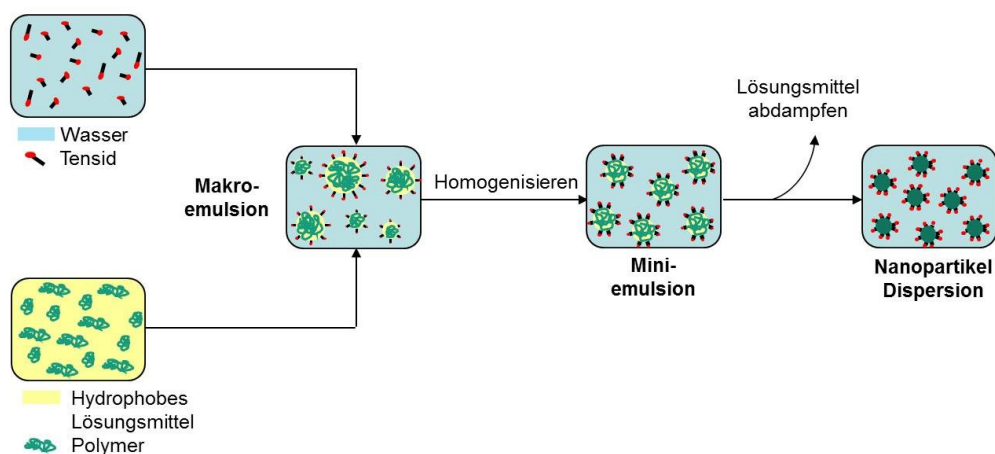


Abbildung 73: Schematische Darstellung der einzelnen Stufen der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungs-technik bei Durchführung im kontinuierlichen Fluss.

Der Fallfilmmikroreaktor (STACK-1x-FFMR-LAB-V2) wurde bereits als gute Möglichkeit zum kontinuierlichen Abdampfen von Lösungsmittel (THF) aus Wasser identifiziert, allerdings ist er für ein erfolgreiches, kontinuierliches Abdampfen auf eine maximale Gesamtflussrate von etwa 4 mL/min limitiert.

Bei der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik ist das Mischen einer der beiden entscheidenden Schritte für die Reproduzierbarkeit definierter Nanopartikel.

Um eine immer gleichbleibende Zusammensetzung und Mischqualität der Präemulsion sicherzustellen, ist es unabdingbar, die kontinuierliche und die disperse Phase reproduzierbar zu mischen.

Mikromischer besitzen großes Potential für das Dispergieren von Flüssigkeiten.^[307] Als Vorteile können neben einer Vorhersage der Töpfchengröße bei einer relativ engen Tropfengrößenverteilung auch eine hohe Energieeffizienz und die Möglichkeit durch ein *Numbering-up* als *Scale-up*-Konzept sowie eine *Production-on-demand* aufgeführt werden.^[307]

Es gibt eine Anzahl von Arbeiten, die sich alle mit der Charakterisierung bzw. dem Vergleich unterschiedlicher Mikromischer miteinander befassen.^[123,307–311] Die Mischeigenschaften einzelner kommerziell erhältlicher Mischer mit unterschiedlichen Mischprinzipien wurden anhand unterschiedlicher Kriterien (mittlerer Tropfendurchmesser und Breite der Verteilung^[308], Druckverlustbestimmung^[123,308,310], Visualisierung mittels Mikroskop^[123,309], Modifikation der Villermaux/Dushman Methode^[308,310], Phasentransfer eines solvatochromen Farbstoffes zwischen zwei nicht mischbaren Flüssigkeiten^[310], einer Neutralisation mit anschließender Hydrolyse^[311] sowie einer Diazokupplung^[311]) bei verschiedenen Flussraten bewertet. Darüber hinaus wurde eine CFD-Simulation (mathematische Berechnung der Strömungsdynamik) über das Mischen in einem Raupenmischers^[309] erstellt, die sehr gut mit den experimentellen Resultaten übereinstimmte.

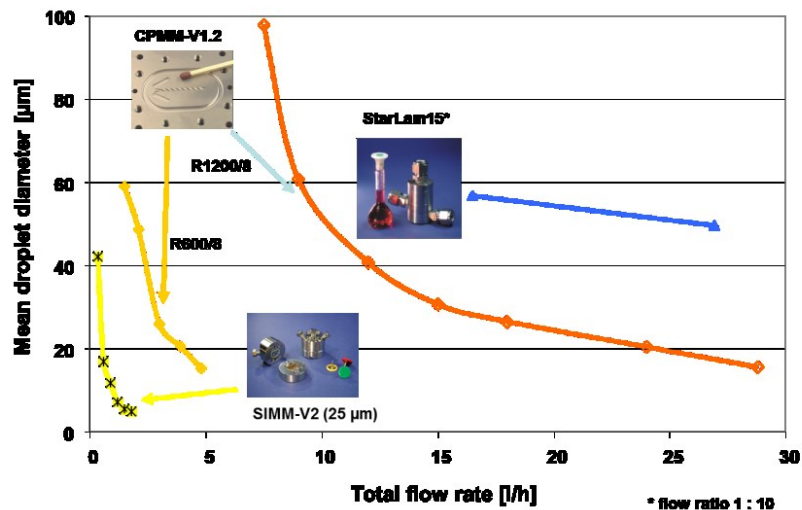


Abbildung 74: Mittlerer Tröpfchendurchmesser als Funktion der Gesamtflussrate beim Dispergieren von *n*-Heptan in einer wässrigen SDS-Lösung im Verhältnis von 1:5 bei für verschiedene Mikromischer (SIMM V2, CPMM-V1.2-R600/8, CPMM-V1.2-R1200/8) und 1:10 für den StarLam15.^[307]

Bei den Raupenmischern haben sowohl die Kanalbreite als auch die Anzahl der Mischstufen einen wesentlich Einfluss auf seine Mischeigenschaften.

Ein Raupenmischer mit 8 Mischstufen und einer Kanalbreite von 600 µm erzielt einen mittleren Tröpfchendurchmesser von 20 µm bereits bei einer Gesamtflussrate von 65 mL/min, bei der gleichen Anzahl an Mischstufen aber einer Kanalbreite von 1200 µm benötigt man dafür eine Gesamtflussrate von 400 mL/min. Im Vergleich dazu wird dieser mittlere Tröpfchendurchmesser mit einem SIMM V2 Interdigitalmischer bereits bei 25 mL/min erreicht.^[307,308]

Vor allem aufgrund seiner hervorragenden Mischeigenschaften bei geringen Flussraten, wie bei der für diesen Aufbau gewählten Gesamtflussrate von ~ 4 mL/min, ist der Interdigitalmischer am besten geeignet, um eine Präemulsion mit hoher reproduzierbarer Qualität und möglichst kleiner Tröpfchengröße bei der vorgegeben Gesamtflussrate herzustellen.

Betrachtet man die Dispergiereigenschaften des SIMM-V2 Ag40 anhand der Messdaten von Stephan Hollomotz^[308] (siehe Abbildung 75) wäre eine Gesamtflussrate von 20 mL/min ideal um eine Präemulsion mit möglichst kleinen Tröpfchen bei sehr enger Größenverteilung herzustellen. Durch die Verwendung des STACK-1x-FFMR-LAB-V2 Fallfilmmikroreaktor ist die Gesamtflussrate jedoch auf 4 mL/min limitiert.

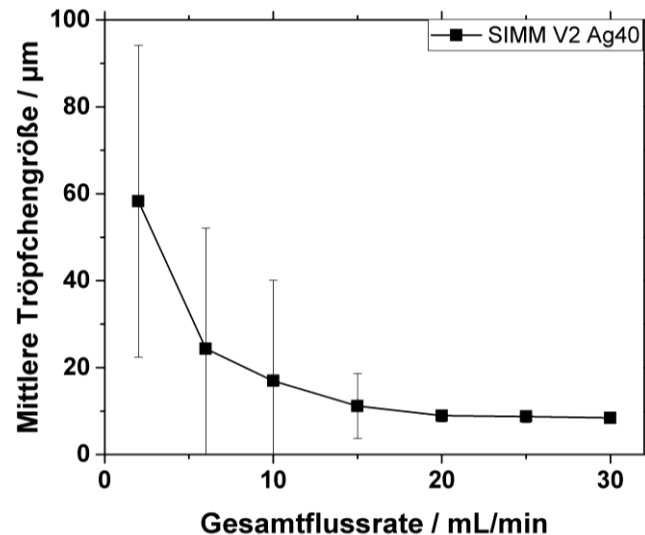


Abbildung 75: Vergleich der mittleren Tröpfchengröße in Abhängigkeit von der Gesamtflussrate beim Dispergieren von n-Heptan in einer wässrigen SDS-Lösung im Verhältnis von 1:4 bei Verwendung des SIMM V2 Ag40 Mikromischers^[308].

Als Pumpen wurden HPLC-Pumpen für den Aufbau gewählt, da diese relativ pulsationsarm mit konstantem Fluss auch gegen hohen Druck fördern können und ein relativ kleines Zulaufvolumen besitzen. Alternativ kann für das separate Zumischen eines hydrophoben Cargos zur Polymerlösung auch eine Spritzenpumpe verwendet werden, wenn nur ein sehr begrenztes Volumen an Cargo zur Verfügung steht.

Da bei einer maximalen Gesamtflussrate von ungefähr 4 mL/min selbst mit dem Interdigitalmischer SIMM-V4 lediglich eine Makroemulsion erhalten werden kann, war es notwendig noch einen weiteren Homogenisierungsschritt in den Prozess mit einzubeziehen.

Bei Batchverfahren im Labormaßstab hat es sich etabliert, Ultraschall zu nutzen, um eine Miniemulsion zu erzeugen.^[255,258]

Nach eingehender Recherche wurde die Ultraschallzelle der Firma Hielscher (Berlin, Deutschland) bestehend aus einer Mini-Durchfluss-Zelle/Minireaktor mit Glasrohr als Beschallungsraum und einem Ultraschall-Prozessor in Spezialausführung zum Betreiben der Mini-Durchflusszelle ausgewählt. Die Leistung des Ultraschall-Prozessors beträgt 250 Watt bei einer Frequenz von 24kHz, mit automatischer Frequenzregelung. Die Amplitude kann auf 20-100% eingestellt werden.

Dieses System bietet den großen Vorteil, dass es keinen direkten Kontakt zwischen der Sonotrode und der Emulsion gibt. Dadurch kann sowohl eine Verunreinigung der Sonotrode als auch ein Abtrag des Sonotrodenmaterials in die Emulsion hinein ausgeschlossen werden.

Der Nachteil dieser indirekten Beschallung ist allerdings, dass lediglich der Bruttoenergieeintrag mit Hilfe des Leistungs-Messgerät PowMet230 quantifiziert werden kann. Eine Bestimmung des Nettoenergieeintrags hingegen ist sehr komplex, da der Energieeintrag in Form von Ultraschall in die Emulsion nur indirekt erfolgt. Theoretisch kann er bestimmt werden, indem die Erwärmung des Kühlwassers gemessen wird und vom Bruttoenergieeintrag abgerechnet wird.

Dies wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt, sondern lediglich der Bruttoenergieeintrag des Ultraschallprozessors aufgezeichnet.

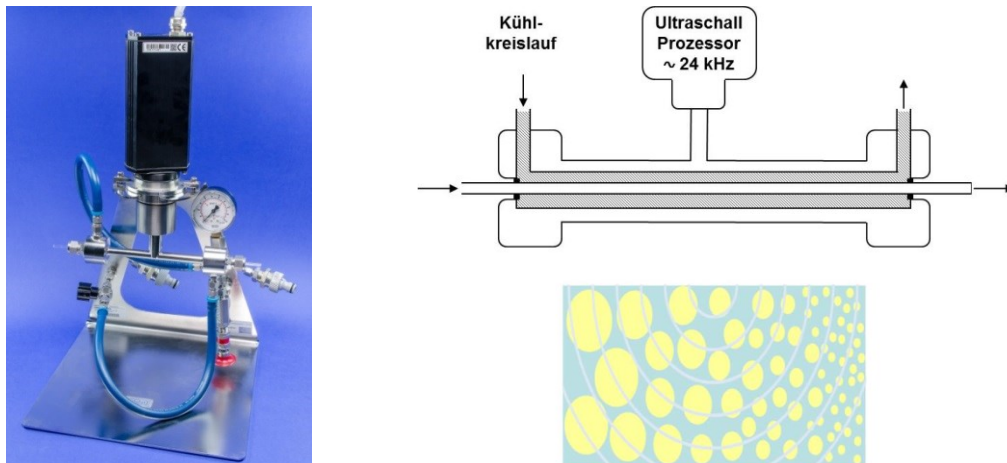


Abbildung 76: Ultraschalldurchflusszelle der Firma Hielscher (links) und deren schematischer Aufbau (rechts oben) und Funktionsweise (rechts unten).

Der Ultraschall-Processor ist fest an dem hantelförmigen aus Edelstahl bestehenden Beschallungsbereich angebracht. Durch diesen führt ein Glasrohr, durch welches die Präemulsion gepumpt wird.

Das Glasröhrchen mit der Emulsion ist von einem Kühlwasserkreislauf umgeben, der einen Druck von 6,5 – 7 bar hat. Dies ist notwendig um möglichst wenig Kavität, und somit Energieverlust, im Kühlwasser und möglichst hohen Energieeintrag in die Emulsion zu erreichen.

Dieses Glasrohr, in welchem die indirekte Beschallung stattfindet, hat eine Länge von ca. 300 mm und einen Innendurchmesser von 2,4 mm. Die tatsächliche Beschallungszone erstreckt sich allerdings lediglich über 140 mm. Daraus ergibt sich ein Volumen von 0,633 mL, das sich gleichzeitig in der Beschallungszone befindet.

Bei einer gewählten Gesamtflussrate von ca. 4 mL/min entspricht dies einer inkrementellen Beschallungsdauer von 10 sec.

Um die allgemeine Tauglichkeit der Ultraschalldurchflussszelle zur Herstellung einer Miniemulsion zu testen, wurden Versuche mit Rapsöl als disperser Phase und einer wässrigen SDS-Lösung als kontinuierlicher Phase durchgeführt. Dafür wurden Rapsöl (O) und die wässrige SDS-Lösung (W) im Verhältnis 1:8 (O:W) mit einer Gesamtflussrate von 1,27 mL/min gemischt. Dies entspricht einer Verweildauer von 30 sec in der Beschallungszone.

Rein optisch konnte man am Eingang der Durchflussszelle noch die makroskopischen Tropfen aus Rapsöl in der wässrigen SDS-Lösung erkennen. Jeweils nach 2-5 min stellte sich am Übergang von Schlauch zu Glasrohr ein gleichmäßiges Einströmen der Tropfen in das Glasrohr ein.

Am Ausgang der Ultraschallzelle konnte man ab 80 % Amplitude, 16,5 Watt Energieeintrag, eine gleichmäßig milchig aussehende Emulsion erhalten (siehe Abbildung 77).

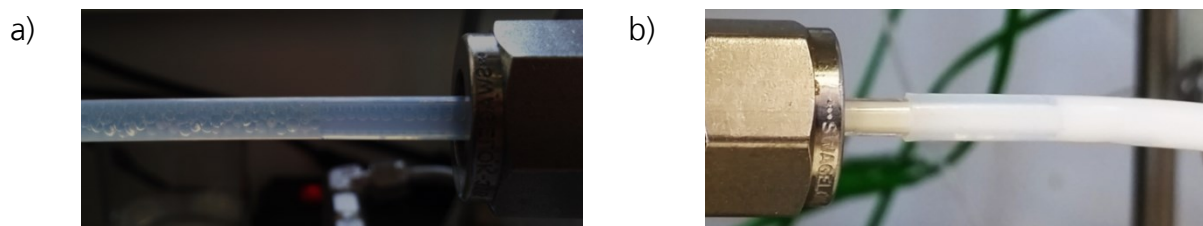


Abbildung 77: (a) Einströmen einer Makroemulsion aus Rapsöl und einer wässrigen SDS-Lösung in die Ultraschalldurchflussszelle bei Übergang von Schlauch auf Glasrohr. (b) Ausströmen der Miniemulsion aus der Ultraschallzelle.

Darüber hinaus wurden Emulsionen nach Beschallung mit 0 %, 60 %, 80 % und 100 % Amplitude gesammelt und über 96 Stunden hinweg beobachtet. Die Emulsion mit dem höchsten Energieeintrag (21,3 Watt) bei einer Amplitude von 100 % sah sogar noch nach 96 Stunden optisch homogen aus (siehe Abbildung 78).

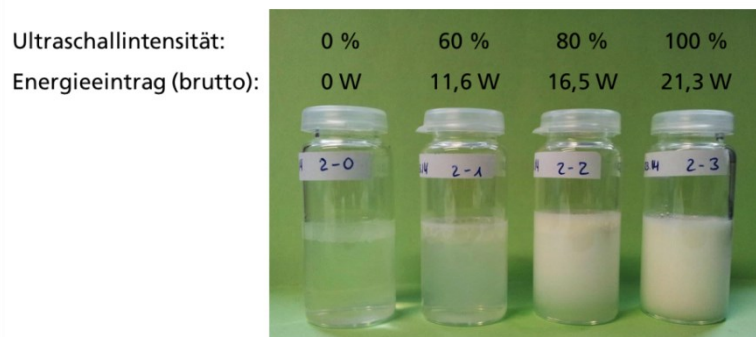


Abbildung 78: Langzeittest zur Stabilität von einer in der Ultraschalldurchflussszelle hergestellten Miniemulsion aus Rapsöl (O) in einer wässrigen SDS-Lösung (W) bei einem Mischverhältnis von 1:8 (O:W) und einer Gesamtflussrate von 1,27 mL/min, was einer Verweildauer von 30 sec in der Beschallungszone entspricht, nach 96 h.

Dieses Experiment demonstriert die prinzipielle Eignung zur effektiven Herstellung metastabiler Emulsionen.

So konnte das Fließschema zur Planung des Laboraufbaus erstellt werden, siehe Abbildung 79. Es gibt jeweils ein Vorratsgefäß für die wässrige Tensidlösung und das in einem hydrophoben Lösungsmittel gelöste Polymer.

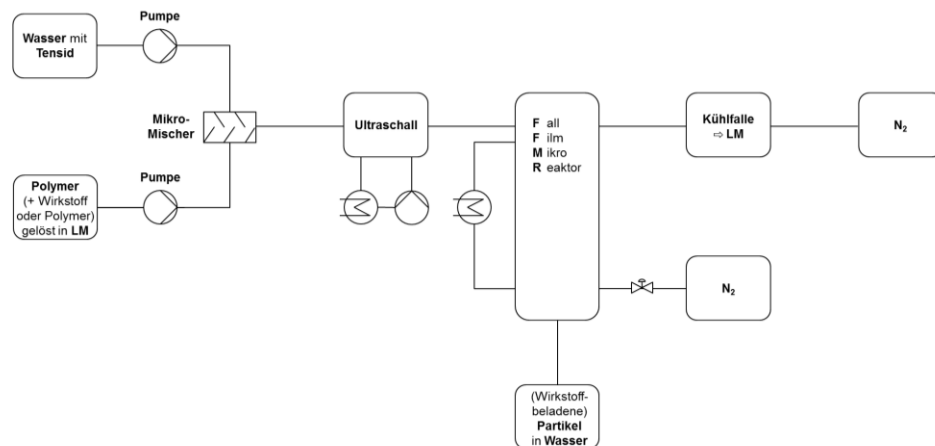


Abbildung 79: Fließschema zur kontinuierlichen Herstellung polymerer Nanopartikel mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungs-technik bestehend aus je einem Vorratsgefäß für die wässrige Tensidlösung und das in hydrophobem Lösungsmittel gelöste Polymer, zwei Pumpen, einem Mikromischer, einer Ultraschalldurchflussszelle mit Thermostat und separater Pumpe zum Druckaufbau, einem Fallfilmmikroreaktor mit angeschlossenen Thermostat, einem Stickstoff-Gasanschluss und einer Kühlfalle.

Soll ein hydrophober Wirkstoff oder anderer Cargo (Farbstoff, magnetisches Eisenoxid) verkapselt werden, wird dieser bereits mit dem Polymer zusammen im gewünschten Verhältnis gelöst und vorgelegt.

Beide Phasen werden durch jeweils eine Pumpe durch einen Mikromischer vereint und bilden eine definierte Prä-/ Makroemulsion. Diese fließt direkt im Anschluss durch die Ultraschalldurchflussszelle, in der eine Zerkleinerung und Homogenisierung der Tröpfchengröße stattfindet.

Als letzter Schritt erfolgt im Fallfilmmikroreaktor das Verdampfen des hydrophoben Lösungsmittels, so dass eine wässrige Dispersion polymerer Nanopartikel erhalten wird. Das verdampfte Lösungsmittel wird in einer Kühlfalle kondensiert und aufgefangen.

Um den Aufbau noch etwas universeller für die Verkapselungen hydrophober Substanzen zu gestalten und vor allem, um den Gehalt an hydrophobem Cargo noch flexibler, schneller und sparsamer zu dosieren, wurde ein weiterer Mischer in das Fließschema für den Aufbau integriert, siehe Abbildung 80.

Durch das Einfügen dieses zusätzlichen Mischers ist es nun möglich, jeweils eine Stammlösung des Polymers sowie des zu verkapselnden Cargos vorzulegen und diese je nach Bedarf in unterschiedlichen Verhältnissen zu mischen.

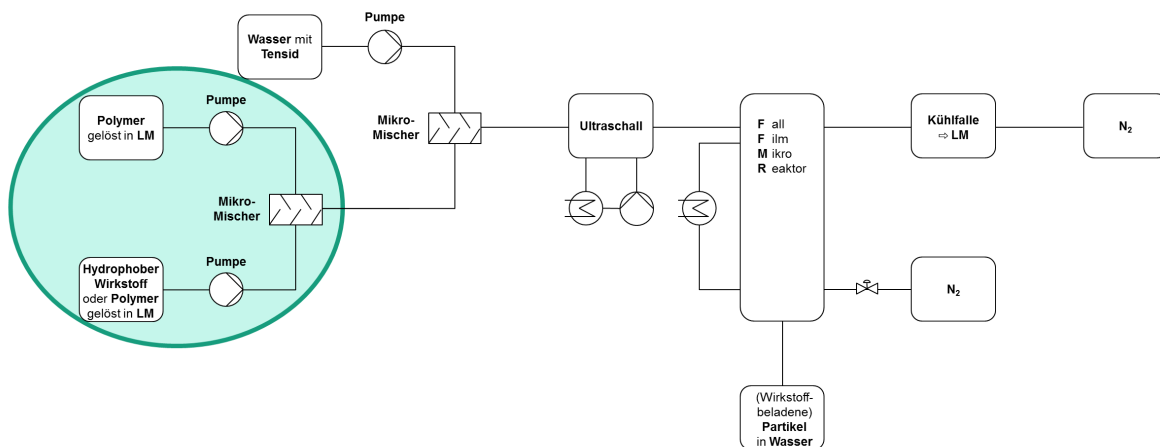


Abbildung 80: Fließschema zur kontinuierlichen Herstellung polymerer Nanopartikel mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik bestehend aus je einem Vorratsgefäß für die wässrige Tensidlösung, das in hydrophobem Lösungsmittel gelöstes Polymer sowie dem das in hydrophobem Lösungsmittel gelösten zweiten Polymer oder hydrophobem Cargo, drei Pumpen, zwei Mikromischer, einer Ultraschalldurchflusszelle mit Thermostat und separater Pumpe zum Druckaufbau, einem Fallfilm-mikroreaktor mit angeschlossenen Thermostat, einem Stickstoff-Gasanschluss und einer Kühlfalle.

Dadurch entfällt das Ansetzen einzelner Stammlösungen, wenn unterschiedliche Gehalte an Cargo gescreent werden sollen. Der Anteil an Cargo kann über einen breiten Bereich variiert werden, da er wohlkontrolliert werden kann und bei einem Wechsel zu einer anderen Konfiguration bereits das Totvolumen zwischen Vorratsgefäß und Mischer gefüllt ist. Nachteilig hingegen ist, dass dadurch die absolute Polymerkonzentration im Lösungsmittel leicht variiert.

Dennoch bietet dieser Aufbau den großen Vorteil, relativ einfach und schnell viele unterschiedliche Anteile an verschiedenen zu verkapselnden Cargos zu untersuchen.

Aufbauend auf dem erstellten Fließschema (Abbildung 80) wurde in enger Zusammenarbeit mit Silvio Kraus von diesem eine CAD-Zeichnung (Abbildung 81) zur praktischen Umsetzung erstellt.

Zur Montage der Komponenten wurde anhand der Abmessungen der CAD-Zeichnung eine Aluminiumlochplatte hergestellt.



Abbildung 81: CAD-Zeichnung von Silvio Kraus angefertigt (links) und deren Umsetzung als Aufbau im Labormaßstab (rechts).

Der fertige Aufbau kann je nach Bedarf mit zwei Pumpen und einem Mischer (Abbildung 79) oder auch drei Pumpen und zwei Mischern (Abbildung 80) betrieben werden.

Die Totvolumina der fertigen Anlage wurden für beide Betriebsvarianten (siehe Abbildung 82) anhand des fertigen Aufbaus berechnet. Im Fall, dass der Aufbau mit zwei Pumpen und einem Mischer betrieben wird, ergibt sich ein Totvolumen von 3,96 mL für die komplette Anlage. Werden hingegen drei Pumpen und zwei Mischer genutzt, vergrößert sich das Totvolumen lediglich um 1 mL und beträgt somit 4,96 mL.

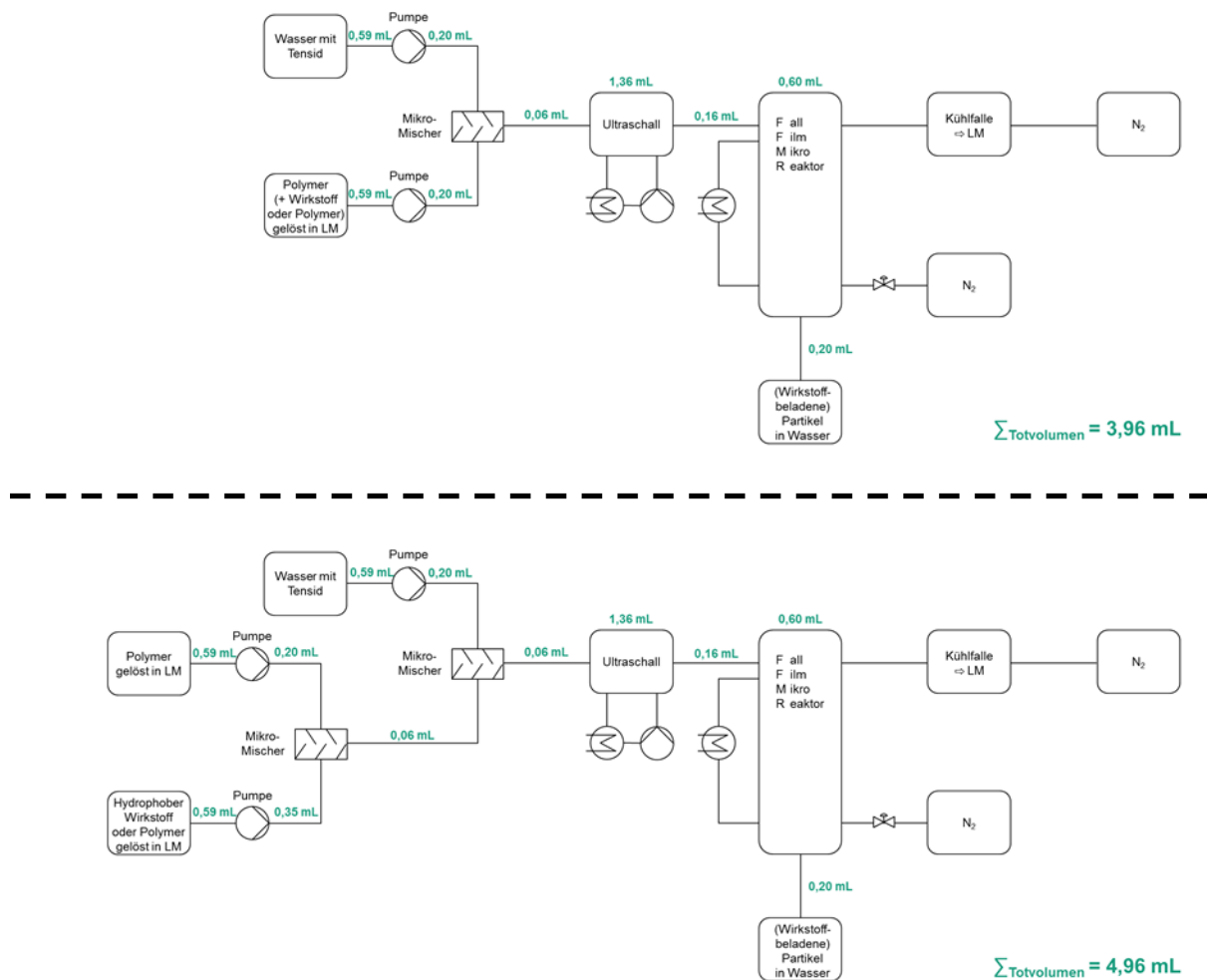


Abbildung 82: Berechnung des Totvolumens für die beiden Betriebsmöglichkeiten – 2 Pumpen, 1 Mischer (oben) und 3 Pumpen, 2 Mischer (unten) – des kontinuierlichen Aufbaus im Labormaßstabs (siehe Abbildung 81) zur Herstellung polymerer Nanopartikel mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik.

Im Rahmen der Veranstaltung „Open House 2016“ des Fraunhofer IMM wurde der Aufbau im kontinuierlichen Betrieb über 6 Stunden hinweg kontinuierlich betrieben. Es wurden mit dem Farbstoff Nilrot beladene PLGA-Nanopartikel hergestellt. Dazu wurde eine 3 wt% Lösung von PLGA in Chloroform vorgelegt und mit 0,35 mL/min gepumpt. Der zu verkapselnde Farbstoff wurde mit 0,5 wt% in Chloroform gelöst und mit einer Geschwindigkeit von 0,05 mL/min mit der PLGA-Lösung vermischt. Als kontinuierliche Phase diente eine 2 wt%ige Lösung von SDS in Wasser, die mit einer Flussrate von 3,2 mL/min gepumpt wurde.

Der Fallfilmmikroreaktor wurde auf 60 °C temperiert und mit einer Flussrate von 500 mL/min Stickstoffgegenstrom betrieben. Nach jeweils einer Stunde wurde eine Probe genommen und die Größe der Partikel mit dem NANO-flex® (Microtrac, Meerbusch, Deutschland) mittels Lichtstreuung gemessen. Die Größe betrug im Mittel $154 \pm 59 \text{ nm}$ mit einer Abweichung $< 2 \%$ über alle 7 Messungen hinweg.

4.4.3 Energetischer und ökonomischer Vergleich des kontinuierlichen Verfahrens mit der Batch-Methode

Bei technischen Aufbauten ist es meist nicht nur erforderlich deren Funktionsfähigkeit zu zeigen, sondern auch eine energetische Betrachtung des Prozesses und ein Vergleich der Bilanz mit Referenzmethoden durchzuführen.

Die Funktionsfähigkeit des, im Rahmen dieser Arbeit entwickelten und etablierten kontinuierlichen Prozesses, wird in Kapitel 4.4 demonstriert.

Im Folgenden wird eine energetische Betrachtung des kontinuierlichen Aufbaus im Vergleich mit dem Standard-Labor-Batch^[255,279] Vorgehen diskutiert.

Bei dem hier als „Labor-Batch Prozess“ bezeichnetem Verfahren, wird eine definierte Menge^[255] (3 wt%)^[279] Polymer in 10 g Chloroform gelöst. In 24 g der wässrigen Phase werden 72 mg SDS als Tensid gelöst. Zum Erhalt einer Makroemulsion werden beide Phasen, wässrig und organisch, mit einem Magnetrührer für 60 min bei 500 rpm schnell gerührt. Danach wird die erhaltene Präemulsion unter Eiskühlung für 180 s (20 s Beschallung, 10 s Pause) mit 70 % Amplitude durch Ultraschall mit einem Branson 450 W Sonifier mit einer ¼"-Spitze zerkleinert und homogenisiert. Die erhaltene Miniemulsion wurde in einen 50 mL Weithalsrundkolben umgefüllt und über Nacht für 18 h bei 40 °C im Ölbad gerührt um das organische Lösungsmittel komplett zu entfernen.

Tabelle 16: Leistung der verwendeten Geräte im Vergleich zwischen dem kontinuierlichen Aufbau und dem Standard Labor-Batch-Verfahren^[255] für jeweils 24 mL Partikeldispersion. Dabei wurde angenommen, dass die Effizienz der Ultraschallsonotrode bei mindestens 50 % liegt; das Cryostat also nur eine Kühlleistung von 10 Watt aufbringen muss um die Kühlwassertemperatur konstant zu halten (Ultraschall-Bruttoleistung 20 Watt).

	Gerät	Leistung [W]	Zeit [min]	Energie [kJ]
Kontinuierlicher Aufbau	HPLC-Pumpen	12	7,5	5,4
	Sonotrode	20	7,5	9,0
	Kreiselpumpe	50	7,5	22,5
	Cryostat	10	7,5	4,5
	Thermostat	20	7,5	9
				Σ = 50,4 kJ
Labor-Batch-Aufbau	Rührplatte	4	60	14,4
	Sonotrode	115	3	20,7
	Ölbad	5	1080	324
				Σ = 359,1 kJ

Betrachtet man die Leistung der eingesetzten Geräte und multipliziert diese mit der Zeit, die das jeweilige Gerät eingesetzt wird, erhält man die benötigte Energie zur Herstellung einer definierten Menge an Nanopartikel-Dispersion.

Vergleicht man nun die benötigte Bruttoenergie beider Prozesse (siehe Tabelle 16), benötigt der kontinuierliche Prozess mit 50,4 kJ nur 1/7 der Energie verglichen mit Standard-Labor-Batch^[255,279] Methode mit 359,1 kJ.

Allerdings kann die benötigte Energie für die Standard-Labor-Batch^[255,279]-Methode relativ einfach noch deutlich optimiert werden:

Wird für den 60 minütigen Rührprozess für die Herstellung der Präemulsion eine Multirührplatte (Variomag Multipoint, Komet, Thermo Scientific) verwendet können, dort beispielsweise bis zu 15 Proben gleichzeitig gerührt werden bei einer Leistung von 11,1 W und somit sinkt die benötigte Energie für eine einzelne Probe von 14,4 kJ auf 2,7 kJ. Bei der Beschallung ist keine weitere Optimierung ohne eine Änderung des Vorgehens bzw. der Laborausstattung möglich.

Der Hauptteil der Energie bei der Herstellung wird allerdings auch im letzten Prozessschritt benötigt. In einem herkömmlichen Ölbad können bei definierter Rührgeschwindigkeit bis zu 3 Rundkolben platziert werden, damit würde die benötigte Energie von 324 kJ auf 108 kJ sinken. Hier besteht noch weiteres enormes Potential zu einer Energieeinsparung, wenn die Dauer dieses Prozesses auf ein Minimum reduziert würde. Insgesamt ergibt sich also ein Energiebedarf von 131,4 kJ.

Hierdurch verringert sich der Energiebedarf des Batch-Prozesses von dem 7-fachen des kontinuierlichen Aufbaus auf das 2,6-fache.

Vergleicht man nun jedoch nicht nur das Volumen der Partikeldispersion, sondern auch deren Feststoffgehalt, muss das Verhältnis der benötigten Energie der beiden Prozesse noch einmal angepasst werden.

Geht man jeweils von einer Ausgangskonzentration von 3 wt% Polymer in der dispersen Phase aus, wird beim kontinuierlichen Aufbau maximal im Verhältnis 1:4 (disperse Phase : kontinuierliche Phase) gemischt. Somit werden 10 mL Polymerlösung mit 40 mL wässriger SDS-Lösung emulgiert, nach dem Abdampfen des hydropoben Lösungsmittels erhält man somit 40 mL Partikeldispersion. Bei der Labor-Batch Methode werden hingegen lediglich 6,8 mL Polymerlösung mit 24 mL wässrige SDS-Lösung emulgiert, dies entspricht einem Mischverhältnis von 1:3,5 (disperse Phase : kontinuierliche Phase).

Dadurch kann der Energiebedarf der Labor-Batch Methode nochmal um den Faktor 1,14 verringert werden, wenn beide Prozesse nicht anhand des Volumens der Partikeldispersion, sondern anhand des Feststoffgehalts verglichen werden sollen. So ergibt sich für den benötigten Energiebedarf des Labor-Batch Prozess 115,3 kJ. Dies ist nun „nur“ noch etwa mehr als das Doppelte der benötigten Energie des kontinuierlichen Aufbaus.

In beiden Standard-Labor-Batch^[255,279]-Methoden, mit denen hier der Vergleich geführt wird, erfolgt das Abdampfen über Nacht und wird mit 18 h angegeben. Würde man diese Zeit von 18 h auf 6 h reduzieren, ergäbe sich damit unter Berücksichtigung aller bereits erwähnten Optimierungen eine benötigte Energie für den gesamten Herstellungsprozess von 52,1 kJ. Damit läge der Energiebedarf nur um etwa 4 % höher im Vergleich mit dem kontinuierlichen Aufbau.

Bei dem kontinuierlichen Aufbau müssen – um eine umfassende Betrachtung zu gewährleisten – noch zusätzlich zu der energietechnischen Betrachtung die Kosten für das verbrauchte Stickstoffgas berücksichtigt werden.

Dies sind über den Zeitraum von 7,5 min, der betrachtet wurde, 4,875 L bei 1 bar Druck. Dies ergibt bei handelsüblichen Stickstoffflaschen mit technischem Gas etwa einem Wert von 0,8 Cent und entspricht damit hochgerechnet auf eine Stunde Kosten für den Stickstoffgegenstrom im Fallfilmmikroreaktor von etwa 0,70 Euro.

Bei einem Preis von 28,69 Cent pro kWh (<https://www.strompreise.de/strompreis-kwh/>, 24.02.2017, 10:07 Uhr) würde das Energiekosten von 0,4 Cent für den kontinuierlichen Aufbau entsprechen. Zusammen mit den Kosten für das Gas ergäbe das einen Gesamtpreis von 1,2 Cent für das betrachtete Volumen.

Für den Labor-Batch-Prozess ergäben sich Kosten zwischen 0,42 Cent und 2,9 Cent je nach Optimierungsgrad.

Somit scheint der Labor-Batch Prozess durch Optimierung den kontinuierlichen Aufbau bezüglich der laufenden Kosten für Strom und Gas unterbieten zu können.

Geht man allerdings davon aus, dass der Stickstoffstrom nach der Kühlfalle oder sogar in einer möglichen optimierten Version des Aufbaus, mit Durchflussrückflusskühler anstelle der Kühlfalle (siehe Abbildung 83), direkt wieder in den Fallfilmmikroreaktor eingespeist werden könnte, würden die laufenden Kosten für Stickstoff entfallen und somit die Gesamtkosten des kontinuierlichen Prozesses wieder unter die eines optimierten Labor-Batch Prozesses sinken.

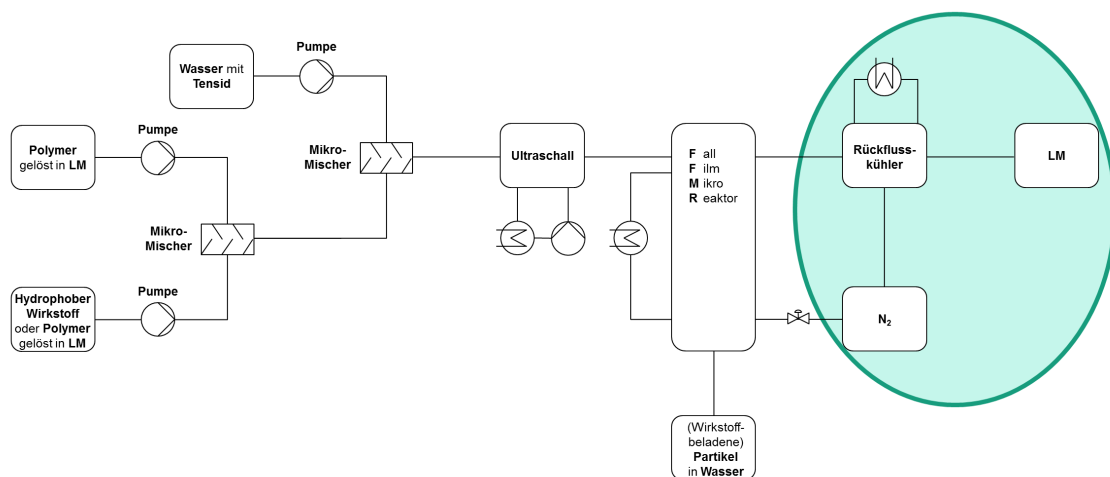


Abbildung 83: Fließschema zur kontinuierlichen Herstellung polymerer Nanopartikel mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik bestehend aus je einem Vorratsgefäß für die wässrige Tensidlösung, das in hydrophobem Lösungsmittel gelöste Polymer sowie das in hydrophobem Lösungsmittel gelöste zweite Polymer oder hydrophobe Cargo, drei Pumpen, zwei Mikromischer, einer Ultraschalldurchflusszelle mit Thermostat und separater Pumpe zum Druckaufbau, einem Fallfilmmikroreaktor mit angeschlossenen Thermostat, einem Stickstoff-Gasanschluss und einem Rückflusskühler mit angeschlossenen Kühlkreislauf.

Ein weiterer Vorteil eines derartigen Rückflusskühlers wäre die potentielle Rückgewinnung und das Recycling des abgedampften Lösungsmittels. Dies wurde im Rahmen dieser Arbeit aber noch nicht realisiert.

Wie in den hier durchgeführten energietechnischen Betrachtungen gezeigt werden konnte, beträgt die benötigte Leistung pro Volumen bzw. Feststoffgehalt des im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Aufbaus zur kontinuierlichen Herstellung polymerer Nanopartikel mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik im Vergleich zur Standard-Labor-Batch^[255,279] Methode - auch wenn diese noch zusätzlich optimiert würde - maximal 70 %. Ohne weitere Annahmen zur Optimierung in Bezug auf die in der Literatur beschriebene Methode, liegt die benötigte Energie sogar bei nur 14 %.

Ein Vorteil der Labor-Batch Methode im Vergleich zum kontinuierlichen Prozess liegt darin, dass beim Wechsel des polymeren Systems oder des zu verkapselten Cargos für eine einzelne Probe insgesamt weniger Material notwendig ist. Dies kann damit erklärt werden, dass beim kontinuierlichen Aufbau zuerst das Totvolumen mit der entsprechenden Lösung gefüllt werden muss und normalerweise am Anfang ein definierter Teil der Probe verworfen wird zur Reproduzierbarkeit und Qualitätssicherung.

Insgesamt soll aber auch noch einmal auf die benötigte Zeit zur Herstellung eines gewissen Volumens hingewiesen werden: bei der Labor-Batch Methode wird etwa ein Tag benötigt, bei dem kontinuierlichen Verfahren lediglich 7,5 min. Somit ist das kontinuierliche Verfahren für die Herstellung einer einzelnen Probe um den Faktor 200 schneller und damit auch erheblich günstiger.

4.4.4 Darstellung der wesentlichen Versuchsparameter zur Evaluierung der Versuchsanlage

Die Herstellung der Polystyrol-Nanopartikel basiert auf einer Kombination der Miniemulsionstechnik mit der Lösungsmittelverdampfungsmethode, der sogenannten Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik.

Hier an dieser Stelle werden der Versuchsaufbau und die -durchführung lediglich im Allgemeinen beschrieben, um ein Verständnis für die Bearbeitung der Fragestellung zu bekommen. Die für die jeweiligen Experimente verwendeten spezifischen Konzentrationen, Mischverhältnisse und Flussraten werden in Kapitel 6.3.4 detailliert beschrieben.

In einzelnen Versuchsreihen wurden unterschiedliche Parameter mit dem Ziel variiert, den entwickelten Aufbau zur kontinuierlichen Herstellung polymerbasierter Nanopartikel über Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik zu evaluieren.

Dazu wurde jeweils mit einer organischen Phase mit definierter Konzentration an gelöstem Polystyrol in Chloroform als disperser Phase (O) sowie einer kontinuierlichen wässrigen Phase (W) aus entionisiertem Reinstwasser mit einem definierten Anteil des anionischen Tensids SDS (Natriumdodecylsulfat) gearbeitet.

In der ersten Versuchsreihe wurde systematisch der Einfluss der Herstellung einer Präemulsion (T-Stück oder Mikromischer (SIMM-V4)) sowie des Abdampfens (Batch oder kontinuierlich über den Fallfilmmikroreaktor) auf die Größe der resultierenden Polystyrol-Nanopartikel untersucht.

Die Reorganisation und Homogenisierung der Tröpfchen der Präemulsion durch Energieeintrag hin zu einer Miniemulsion erfolgte in allen Experimenten durch eine Ultraschalldurchflusszelle.

Eine 2 wt % Lösung von Polystyrol ($M_w = 192.000 \text{ g/mol}$) in Chloroform wurde im Verhältnis 1 : 4 mit einer wässrigen 3 wt% SDS-Lösung bei einer Gesamtflussrate von 4,10 mL/min gemischt. Dies entspricht einer Flussrate von 0.82 mL/min für die disperse (O) und 3.28 mL/min für die kontinuierliche Phase (W).

Das diskontinuierliche Abdampfen im Batch erfolgte unter Rühren (500 rpm) in einem Rundkolben mit Weithals über Nacht in einem temperierten Ölbad bei 40 °C.

Für das kontinuierliche Abdampfen wurde der Fallfilmmikroreaktor bei einer Temperatur von 60 °C betrieben. Der Stickstoffstrom betrug 650 mL/min und wurde im Gegenstrom zum flüssigen Strom angelegt.

Um den Einfluss der Molmasse (M_w) auf die Partikelgröße zu untersuchen, wurde Polystyrol mit drei unterschiedlichen Molmassen ($M_w = 35000 \text{ g/mol}$, $M_w = 192000 \text{ g/mol}$ und $M_w = 280000 \text{ g/mol}$) unter ansonsten gleichen Reaktionsbedingungen wie im vorherigen Versuch unter Verwendung von Mikromischer, Ultraschalldurchflusszelle und Fallfilmmikroreaktor verwendet, da sich diese Prozessparameter als die vielversprechendsten / mit dem vorliegenden Aufbau am breitesten anwendbar herausgestellt haben.

Darüber hinaus wurde in einem weiteren Experiment die Konzentration an SDS in der kontinuierlichen Phase variiert (1,5 g/L, 3,0 g/L und 4,5 g/L), um deren Einfluss auf die Partikelgröße zu untersuchen. Zusätzlich wurden unterschiedliche Polymerkonzentrationen (5 g/L, 20 g/L, 30 g/L and 50 g/L) an Polystyrol ($M_w = 192.000$ g/mol) eingestellt.

Abschließend wurde der Einfluss des Mischverhältnisses auf die resultierende Partikelgröße untersucht, indem die disperse Phase (O) und die kontinuierliche Phase (W) nicht nur im Verhältnis 1:4 sondern auch im Verhältnis 1:8 gemischt wurden und dabei jeweils noch zusätzlich die Konzentration (5 g/L, 20 g/L, 30 g/L and 50g/L) des Polystyrol ($M_w = 192.000$ g/mol) in Chloroform variiert wurde.

Dabei wurde darauf geachtet, dass die Gesamtflussrate jeweils 4.10 mL/min betrug; dies entspricht für das Mischungsverhältnis von 1:4 (O:W) Flussraten von 0,82 mL/min (O) und 3,28 mL/min (W) und für das Mischungsverhältnis von 1:8 (O:W) Flussraten von 0,46 mL/min (O) und 3,64 mL/min (W).

4.4.5 Diskussion der Ergebnisse

Die Emulsions-Lösungsmittelverdampfungs-technik ist ein wertvoller Prozess zur Darstellung polymerer Nanopartikel mit kontrollierten Eigenschaften. Um die Vorteile kontinuierlicher Prozessführung auf diese Methode zu übertragen, die in bisherigen Laboraufbauten lediglich aus einem Becherglas und einem Rührer oder einer Ultraschallsonotrode besteht^[255,257], wurde im Rahmen dieser Arbeit ein kontinuierlicher Aufbau entwickelt und etabliert.

Dazu wurde der Einfluss des Mikromischers auf die Güte der Präemulsion im Vergleich zu einem T-Stück untersucht. Die resultierende Partikelgröße von Polystyrol-Nanopartikeln wurde verglichen je nachdem, ob im Batch über Nacht abgedampft wurde oder kontinuierlich mittels des Fallfilmmikroreaktors.

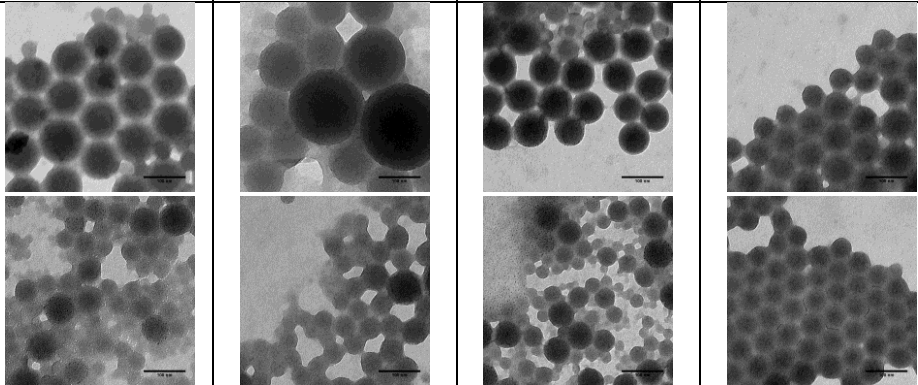
Anhand von Polystyrol als Referenzpolymer wurde die Auswirkung unterschiedlicher Molekulargewichte, Phasenmischverhältnisse sowie der Polymer- und Tensidkonzentration bei ansonsten konstant gehaltenen Reaktionsbedingungen auf die resultierende Partikelgröße analysiert.

4.4.5.1 Einfluss bei der Verwendung eines T-Stücks bzw. eines Mikromischers zur Formulierung der Präemulsion sowie der Methodik zum Abdampfen des organischen Lösungsmittels (Batch oder Fallfilmmikroreaktor) auf die Größe der resultierenden Teilchen anhand von Polystyrol-Partikeln

Der Unterschied in der Güte des Mischvorgangs – im Vergleich T-Stücks mit Mikromischer und damit direkt der Qualität der Präemulsion und den daraus hergestellten Partikeln – wurde anhand der Größe von Polystyrol-Partikeln untersucht und beurteilt.

Darüber hinaus wurde die resultierende Größe von Polystyrol-Partikeln nach dem kontinuierlichen Abdampfen durch Nutzung des Fallfilmmikroreaktors mit der Größe von analog hergestellten Polystyrol-Partikeln, allerdings nach Abdampfen im Batch verglichen (siehe Kapitel 4.4.5.1).

Tabelle 17: Vergleich des Einfluss auf die resultierende Größe von Polystyrol-Partikeln beim Emulgieren der Präemulsion mit einem T-Stück oder einem Mikromischer und darüber hinaus beim Abdampfen im Batch über Nacht unter Rühren im Ölbad oder kontinuierlich über den Fallfilmmikroreaktor gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°.

Emulgiermethode	T-Stück + Ultraschall	T-Stück + Ultraschall	Mikromischer + Ultraschall	Mikromischer + Ultraschall
Abdampfmethode	Batch	FFMR	Batch	FFMR
Partikelgröße [nm]	170 ± 89	166 ± 87	125 ± 66	109 ± 51
TEM Bilder				

Erfolgt das Emulgieren ausschließlich mit einem T-Stück oder alternativ auch mit einem Mikromischer, aber ohne jeden Einsatz der Ultraschalldurchflusszelle, führte dies lediglich zur Erzeugung einer Makroemulsion (vergleiche Abbildung 75, Kapitel 156).

In Tabelle 17 ist deutlich der Unterschied bei der Verwendung eines T-Stücks im Vergleich zum Mikromischer auf die Größe der Polystyrol-Partikel zu sehen:

Bei Nutzung des T-Stücks zur Erzeugung der Präemulsion werden Partikel mit einem Durchmesser von 170 ± 89 nm beim Abdampfen im Batch bzw. 166 ± 87 nm beim kontinuierlichen Abdampfen erhalten.

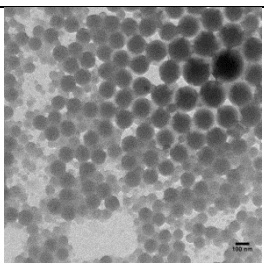
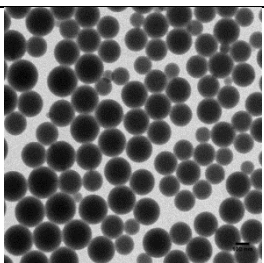
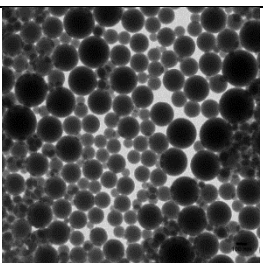
Beim Emulgieren mit einem Mikromischer anstelle des T-Stück ist der Durchmesser der erhaltenen Partikel mit 125 ± 66 nm beim Abdampfen im Batch im Mittel 40 nm kleiner als die Vergleichsprobe mit T-Stück; beim Abdampfen mittels des Fallfilmmikroreaktors haben die Partikel einen Durchmesser von nur 109 ± 51 nm und sind somit sogar im Mittel knapp 60 nm kleiner.

Damit sind bei ansonsten stabilen Bedingungen die Partikel um 25 % kleiner beim Abdampfen im Batch und sogar um 35 % kleiner beim kontinuierlichen Abdampfen. Allerdings ist die Größenverteilung mit ca. ± 50 % bei allen Proben ähnlich breit.

4.4.5.2 Einfluss der Molmasse (M_w) des Polymers auf die Partikelgröße anhand von Polystyrol-Partikeln

Um den Einfluss der Molmasse des Polymers auf die resultierende Partikelgröße zu untersuchen, wurden mit Polystyrol als Referenzpolymers Nanopartikel unter konstant gehalten Reaktionsparametern jedoch mit drei unterschiedlichen Molmassen (35.000 g/mol, 192.000 g/mol und 280.00 g/mol) hergestellt. Die Viskosität der jeweiligen Polymerlösung wurde nicht bestimmt.

Tabelle 18: Vergleich des Einfluss der Molmasse des Polymers anhand von Polystyrol als Referenz auf die Größe der hergestellten Nanopartikel gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180° .

M_w Polystyrol [g/mol]	35.000	192.000	280.000
Partikelgröße [nm]	110 ± 58	148 ± 82	184 ± 87
TEM Bilder			

Vor allem anhand der Lichtstreudaten wird deutlich, dass es eine eindeutige Tendenz gibt, dass mit steigender Molmasse auch die Größe der resultierenden Nanopartikel ansteigt, wenn alle anderen Parameter in der Herstellung nicht variiert werden.

Sind die Partikel ausgehend von einer Molmasse von 35.000 g/mol lediglich 110 nm im Durchmesser, so wächst ihre Größe auf 148 nm an ausgehend von einer Molmasse von 192.000 g/mol. Bei der größten verwendeten Molmasse von 280.000 g/mol wurden sogar Partikel mit einem Durchmesser von 184 nm erhalten. Die Standardabweichung der Partikelgröße liegt jeweils bei knapp 50 %.

Anhand mittels Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik hergestellter, biokompatibler und bioabbaubarer Poly(3-Hydroxybutyrate-co-Hydroxyvalerate)-Nanopartikel (PHBV) konnten bereits Leimann et al.^[312] zeigen, dass ein höheres Molekulargewicht des Polymers größere Partikel zu Folge hat. Bei einer Molmasse (M_w) von 369.900 g/mol wurden Partikel mit einem Durchmesser von 222 nm. PHBV mit einer Molmasse (M_w) von 44.350 g/mol wurde durch Esterspaltung mit Natriumborhydrid (NaBH_4) in einer Methanolyse erhalten.

Bei Verwendung des Polymers mit der deutlich geringeren Molmasse wurden Partikel mit einem Durchmesser von 116 nm erhalten. Die Tendenz zur Ausbildung kleinerer Tröpfchen und damit kleinerer Partikel führen die Autoren auf die geringere Viskosität bei kleineren Molmassen zurück. Die im Umkehrschluss höhere Viskosität bei größeren Molmassen erschwert die Bildung einer Dispersion.^[313] Ein analoges Verhalten wurde ebenfalls von Baran et al. anhand von PHBV Kapseln, von Musyanovych et al.^[255] anhand von PLLA-Nanopartikeln (Poly(L-Lactid)) sowie PCL-Nanopartikeln (Polycaprolacton) und von Gaspar et al.^[314] bei PLGA-Nanokapseln beschrieben.

4.4.5.3 Einfluss der Tensidkonzentration an SDS auf die Partikelgröße von Polystyrol-Partikeln bei unterschiedlichen Polymerkonzentrationen

Um den Einfluss der Tensidkonzentration an SDS auf die resultierende Partikelgröße zu untersuchen, wurden mit Polystyrol als Referenzpolymer Nanopartikel unter konstant gehalten Reaktionsparametern jedoch mit drei unterschiedlichen SDS-Konzentrationen (1,5 g/L, 3,0 g/L und 4,5 g/L) hergestellt.

Die kritische Mizellenbildungskonzentration (= CMC, engl. *critical micelle concentration*) beträgt 8,2 mM in reinem Wasser bei 25 °C^[315]; dies entspricht 2,36 g/L.

Tabelle 19: Partikelgröße von Polystyrol-Partikeln in Abhängigkeit von der Polystyrol- (0,5 g/L, 2 g/L, 3 g/L und 5 g/L) sowie der SDS-Konzentration (1,5 g/L, 3 g/L und 4,5 g/L, CMC = 2,36 g/L) bei einer Gesamtflussrate von 4.1 mL/min und einem Mischverhältnis von 1:4 (organische Phase (0.82 mL/min) : wässrige Phase (3.28 mL/min)) gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°.

		Konz. SDS [g/L]									Partikelgröße [nm]
		1,5			3			4,5			
Konz. Polystyrol [wt%]	0,5	79	±	47	47	±	19	41	±	19	
	2	152	±	82	109	±	56	91	±	47	
	3	205	±	126	148	±	82	136	±	76	
	5	254	±	146	220	±	121	188	±	108	

Anhand von Tabelle 19 sind unterschiedliche Trends zu beobachten:

Betrachtet man die Größe der Nanopartikel bei verschiedenen Polymerkonzentrationen und konstant gehaltenem Tensidanteil, zeigt sich, dass der Durchmesser mit zunehmender Polymerkonzentration ansteigt.

Liegt die SDS-Konzentration mit 1,5 g/L unterhalb der CMC von 2,36 g/L erhält man bei gleicher Polymerkonzentration größere Partikel als bei Tensidkonzentrationen oberhalb der CMC.

Ist die Konzentration höher als die CMC werden die Partikel mit zunehmendem Tensidanteil kleiner. In der Literatur wurde dieser Zusammenhang bereits für PHBV-Kapseln^[312], PLLA-Nanopartikel^[255] und PLGA-Partikel^[316–318] beschrieben.

Die Standardabweichung der Größenverteilung liegt bei ungefähr ± 50 %. Bei einer sehr geringen Polymerkonzentration (0,5 wt%) und SDS-Konzentrationen über der CMC (3 g/L und 4,5 g/L) ist die Abweichung mit 40,4 % und 46,3 % am geringsten. Die prozentualen Abweichungen sind bei 1,5 g/L am größten (verglichen jeweils bei der gleichen Polymerkonzentration) und bei 3 g/L Tensid am geringsten.

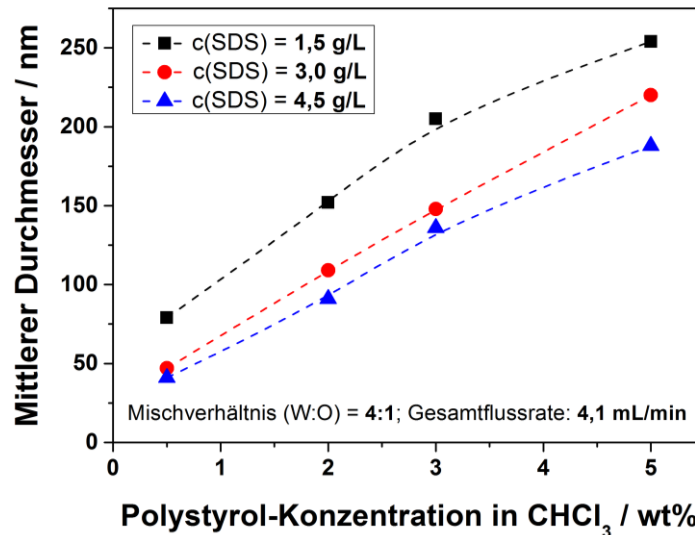


Abbildung 84: Abhängigkeit der Partikelgröße von Polystyrol-Partikeln sowohl von der Polymer- als auch der SDS-Konzentration bei einer Gesamtflussrate von 4.1 mL/min und einem Mischverhältnis von 1:4 (organische Phase (0.82 mL/min) : wässrige Phase (3.28 mL/min)).

Anhand der in Abbildung 84 aufgetragenen Graphen lässt sich ein nahezu linearer Anstieg des Partikeldurchmessers bei steigender Polymerkonzentration erkennen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde darauf verzichtet, Fehlerbalken in das Diagramm einzuzeichnen.

4.4.5.4 Einfluss des Mischverhältnisses auf die Partikelgröße

Um den Einfluss der Mischverhältnisse von der dispersen zur kontinuierlichen Phase auf die resultierende Partikelgröße zu untersuchen, wurden mittels Polystyrol als Referenzpolymer Nanopartikel unter konstant gehalten Reaktionsparametern jedoch bei zwei unterschiedlichen Mischverhältnissen (1:8 und 1:4; disperse Phase : kontinuierlicher Phase) hergestellt.

Bei Mischverhältnissen mit einem geringeren Anteil als 1:4 (O:W) der kontinuierlichen Phase, wurde ein geringer Anteil an makroskopischen Teilchen in der resultierenden Dispersion beobachtet. Um sicher zu stellen, dass es zu keinem Verstopfen der Mikrokanäle des Fallfilmmikroreaktors kommt, wurde ein Verhältnis von 1:4 (O:W) als Maximum gewählt.

In Tabelle 20 sind die resultierenden Partikelgrößen mit Standardabweichung bei zwei verschiedenen Mischverhältnissen der dispersen sowie der kontinuierlichen Phase angegeben, wobei zusätzlich noch die Konzentration des Polymers variiert wurde.

Aus den gemessenen Durchmessern der Polystyrol-Partikel in Abhängigkeit des Mischverhältnisses (O:W) sowie der Polymerkonzentration zeigt sich, dass die Partikelgröße sowohl mit zunehmender Polymerkonzentration ansteigt als auch bei geringeren Volumenunterschieden von disperser zu kontinuierlicher Phase zunimmt. Die Standardabweichung beträgt auch in dieser Versuchsreihe wieder etwa $\pm 50\%$.

Aus der Auftragung der Messwerte kann für beide Mischverhältnisse ein linearer Anstieg der Partikelgröße mit zunehmender Polymerkonzentration angenommen werden. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde darauf verzichtet, die Fehlerbalken in die Abbildung 85 einzuzeichnen. Die Steigung der Geraden bei einem Mischverhältnis von 8:1 (W:O) ist um den Faktor 1,5 steiler als bei einem Mischverhältnis von 4:1.

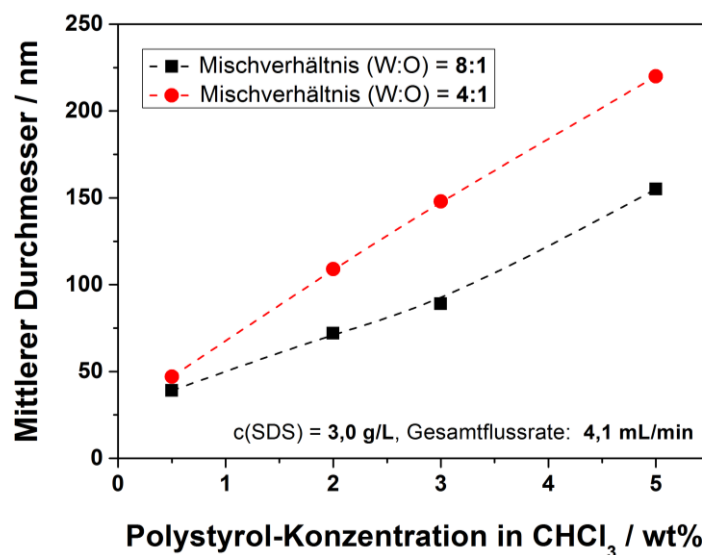
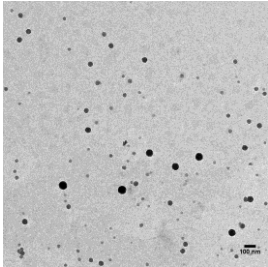
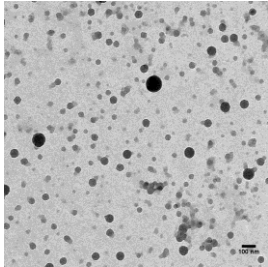
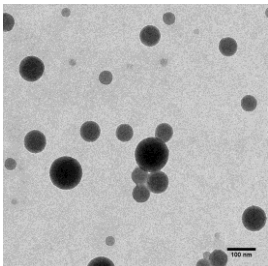
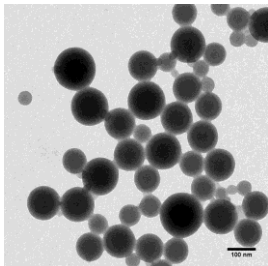
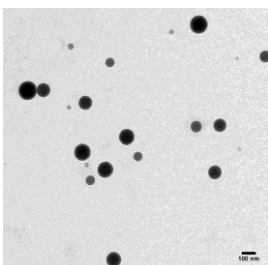
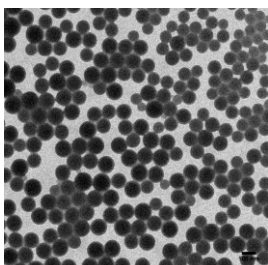
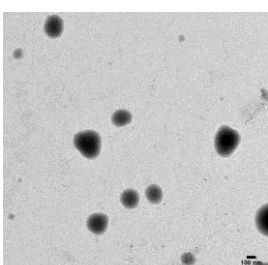
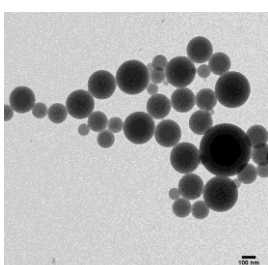


Abbildung 85: Auftragung der Partikelgröße von Polystyrol-Partikeln in Abhängigkeit von der Polystyrolkonzentration sowie dem Mischverhältnis zwischen der organischen und der wässrigen Phase bei einer festen Ausgangskonzentration von 3,0 g/L der wässrigen SDS-Lösung gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°. Die Gesamtflussrate betrug jeweils 4.1 mL/min, dies entspricht bei einem Mischverhältnis von 1:4 (organische Phase (0.82 mL/min) : wässriger Phase (3.28 mL/min)) und bei einem Mischverhältnis von 1:8 (organische Phase (0.46 mL/min) : wässriger Phase (3.64 mL/min)).

Bei Betrachtung der TEM Bilder in Tabelle 20 ist die Gleichmäßigkeit der Partikel bei einem Mischverhältnis von 1:4 (O:W) und einer Polymerkonzentration von 3 wt% auffällig. Aufgrund dessen und der Tatsache, dass für die meisten potentiellen Anwendungen eine möglichst hohe Partikelkonzentration von Interesse ist, wurden diese Reaktionsparameter als Standard für weitere Experimente ausgewählt.

Tabelle 20: Partikelgröße von Polystyrol-Partikeln in Abhängigkeit der Polymerkonzentration sowie dem Mischverhältnis zwischen organischer und wässriger Phase bei einer festen Ausgangskonzentration von 3,0 g/L der wässrigen SDS-Lösung gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°. Die Gesamtflussrate betrug jeweils 4.1 mL/min, dies entspricht bei einem Mischverhältnis von 1:4 (organische Phase (0.82 mL/min) : wässrige Phase (3.28 mL/min)) und bei einem Mischverhältnis von 1:8 (organische Phase (0.46 mL/min) : wässrige Phase (3.64 mL/min)).

		Mischverhältnis (O:W)		Partikelgröße [nm]
		1:8	1:4	
Konz. Polystyrol [wt%]	0.5	39 ± 18 	47 ± 19 	
	2	72 ± 36 	109 ± 56 	
	3	89 ± 42 	148 ± 82 	
	5	155 ± 88 	220 ± 121 	

Musyanovych et al.^[255] konnten bei Batchversuchen keinen großen Einfluss bei unterschiedlichen Mischverhältnissen (1 : 2,4 und 1 : 4,8 (O : W)) auf die Größe der hergestellten PLLA-Nanopartikeln feststellen.

Bei der Herstellung von PHBV-Partikeln durch Leimann et al.^[312] waren die Partikel bei einer Erhöhung des Anteils der organischen Phase von 20 % auf 30 % deutlich größer und wiesen eine breitere Größenverteilung auf. Dies wurde auf die höhere Konzentration an Tröpfchen zurückgeführt und damit einer größeren Wahrscheinlichkeit der Koaleszenz.

4.4.6 Schlussfolgerung

Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Versuchsanlage basierend auf der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik wurde erfolgreich konstruiert, aufgebaut und anschließend anhand der Darstellung von Polystyrol-Nanopartikeln als Referenzmodell evaluiert.

Eine energetische und ökonomische Betrachtung des kontinuierlichen Verfahrens konnte unter den getroffenen Annahmen Vorteile in Bezug auf benötigte Energie und Zeit im Vergleich mit der Batch-Methode aufzeigen. Darüber hinaus kommt es durch die Prozessführung zu einer deutlichen Minimierung des subjektiven Einflusses des durchführenden Operators.

Unter den vorgegebenen maximalen Flussraten (limitiert durch die Kapazität des Fallfilmmikroreaktors) haben weder ein T-Stück noch ein Mikromischer (SIMM-V4) ausgereicht, um eine Miniemulsion zu erzeugen. Um einen ausreichend hohen Energieeintrag zu erhalten, ist der Einsatz einer Ultraschalldurchflusszelle notwendig.

Es wurde weiterhin gezeigt, dass die Art des Voremulgierens – T-Stück oder Mikromischer – einen wesentlichen Einfluss auf die Größe der resultierenden Nanopartikel hat. Beim Einsatz des Mikromischers werden um bis zu 35 % kleinere Partikel erhalten.

Auch die Art des Abdampfens – im Batch oder kontinuierlich – beeinflusst die Größe der dargestellten Partikel. Bei Nutzung des Fallfilmmikroreaktors werden um 10 % kleinere Nanopartikel erhalten.

Bei Verwendung unterschiedlicher großer Polystyrole ($M_w = 35000$ g/mol, $M_w = 192000$ g/mol und $M_w = 280000$ g/mol) zeigte sich ein klarer Trend, dass mit zunehmender Molmasse der Polymere ebenfalls die daraus gebildeten Partikel im Durchmesser anwachsen. Dies stimmt mit ähnlichen Ergebnissen aus der Literatur überein.

Bei der Variation der Polymerkonzentration zeigt sich deutlich, dass mit zunehmender Konzentration der Durchmesser der Partikel zunimmt, da durch die höhere Konzentration in jedem Emulsionströpfchen mehr Polymer enthalten ist und somit die verbleibenden Partikel nach dem Abdampfen größer sind.

Liegt die Tensidkonzentration unterhalb des CMC-Wertes, so sind die dargestellten Partikel deutlich größer als bei Konzentrationen oberhalb des CMC-Wertes, zudem weisen sie eine breite Größenverteilung auf. Ist die Tensidkonzentration größer als der CMC-Wert, ändert sich die Größe auch bei höherer Konzentration des Tensids kaum noch.

Wird der Anteil der kontinuierlichen Phase am Mischverhältnis erhöht, so kommt es dadurch zu einer Verringerung der Partikeldurchmesser.

Bei allen Versuchen war die Standardabweichung in der Partikelgrößenverteilung ähnlich.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass mit der entwickelten Versuchsanlage durch Variation der Reaktionsparameter reproduzierbar Polystyrol-Partikel mit Durchmessern zwischen 50 nm und 250 nm hergestellt werden konnten.

4.5 Kontinuierliche Herstellung von Hybridpartikeln

Im vorangehenden Kapitel wurde die Entwicklung eines kontinuierlichen Prozesses sowie die Etablierung des resultierenden Laboraufbaus zur Darstellung polymerbasierter Nanopartikel, beruhend auf der Lösungsmittelverdampfungsmethode, beschrieben.

Des Weiteren wurde der Einfluss unterschiedlicher Reaktionsparameter (Polymer- und Tensidkonzentration, Molekulargewicht, Mischverhältnis) auf die resultierende Partikelgröße und deren Reproduzierbarkeit anhand von Polystyrol als Referenzpolymer untersucht.

In diesem Kapitel wird darüberhinausgehend gezeigt, dass ebenfalls unterschiedlichste Hybridmaterialien dargestellt werden können und somit das breite Anwendungsspektrum, das sich daraus ergibt, demonstriert.

Eine Kontrolle über die Morphologie der dargestellten Nanopartikel konnte anhand der Darstellung von Janus-Partikeln bestehend aus Polystyrol und Polylactid mit variierenden Polymeranteilen gezeigt werden (siehe 4.5.1).

Außerdem erfolgte eine Verkapselung hydrophober Substanzen; zum einen magnetische Eisenoxid-Partikel mit unterschiedlichem Massenanteil in Polystyrol (siehe Kapitel 4.5.2) und zum anderen der hydrophobe, solvatochrome Farbstoff Nilrot in Polystyrol bzw. in Poly(Lactid-co-Glycolid) (siehe 4.5.3).

4.5.1 Janus-Partikel aus Polystyrol und Poly-L-Lactid

Anhand der Darstellung polymerer Janus-Partikel aus Polystyrol und Poly-L-Lactid wird in diesem Unterkapitel gezeigt, dass mit dem in dieser Arbeit entwickelten kontinuierlichen Prozess nicht nur zwei unterschiedliche Materialien in einem Partikel vereint werden können, sondern darüber hinaus auch eine Kontrolle der Morphologie möglich ist.

4.5.1.1 Übersicht der Darstellungsmethoden von Janus-Partikel

Janus-Partikel sind anisotrope Partikel mit zwei unterschiedlichen Kompartimenten an der Oberfläche. Aufgrund dieser außergewöhnlichen Struktur können unterschiedliche Funktionen, räumlich getrennt in ein und demselben Partikel eingebaut werden.

Dazu gehören u.a. unterschiedliche Polaritäten oder magnetische und optische Eigenschaften.^[319]

Der Begriff Janus-Partikel wurde erstmals 1988 von Casagrande und Veyssie^[320] verwendet, um kugelförmige Glaspartikel mit einer polaren und einer apolaren Halbkugel zu beschreiben. Die Partikel hatten eine Größe von 50 – 90 μm . Die Herstellung erfolgte im Milligramm-Maßstab durch die Anordnung der Kügelchen an einer Wasser/Öl-Grenzfläche und der anschließenden Modifikation einer Hälfte mit langkettigen Alkanen.^[319]

Der römische Gott Janus – der Gott des Anfangs und den Endes, der Gott mit den zwei Gesichtern, mit denen er gleichzeitig in die Vergangenheit und die Zukunft blicken kann – dient als Namenspatron^[22,22] für die anisotropen Teilchen, die es ermöglichen, multifunktionelle Eigenschaften in partikulär aufgebauten Festkörpern zu kombinieren.^[319]

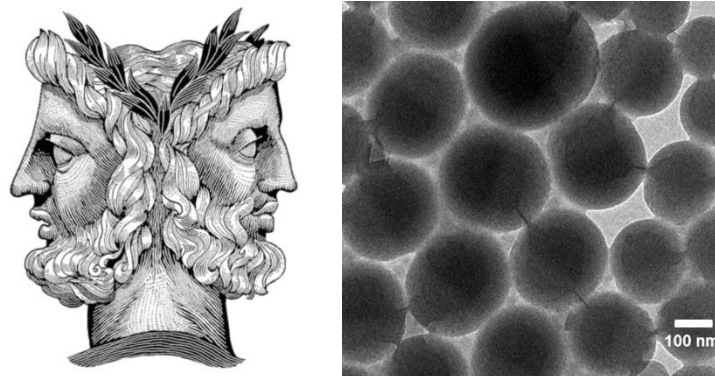


Abbildung 86: Zeichnung des römischen Gott Janus mit seinen zwei Gesichtern, die gleichzeitig in die Vergangenheit und die Zukunft blicken^[319] (links) sowie ein TEM Bild von Janus-Partikeln aus Polystyrol und Poly-L-Lactid (rechts).

Es gibt verschiedene Möglichkeiten Janus-Partikel in Klassen einzuteilen. Eine Variante ist die Klassifizierung nach der Art der chemischen Zusammensetzung in anorganische-anorganische (*hard*), organische-organische (*soft*) und anorganische-organische Partikel (*hybrid*).^[319,321]

Aufgrund der großen Bandbreite und Kombinationsmöglichkeiten der unterschiedlichen Materialien zur Herstellung von Janus-Partikeln sowie der großen Anzahl an Formen sind die potentiellen Anwendungsgebiete vielfältig und aufgrund dessen besteht in den letzten Jahren ein großes Interesse an derartigen Strukturen. Die besondere Attraktivität von Janus-Partikeln beruht auf ihrer Amphiphilie sowie potentiellen optischen, magnetischen und katalytischen Eigenschaften.^[319,321] Mögliche Nutzungsfelder sind Stabilisatoren für Grenzflächen (z.B. für wasserabweisende Textilien), Biosensoren, Wirkstofffreisetzung (*drug delivery*), Displays für E-Paper, selbstangetriebene Nanomotoren, optischer Bildgebung und Katalyse.^[321–327]

Es gibt eine ganze Reihe an Review Artikeln^[322,323,328–335], in denen die Vielzahl synthetischer Darstellungsmethoden für Janus-Partikel, sowie deren Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten, beschrieben werden.

Die primäre Eigenschaft von Janus-Partikeln ist ihre Anisotropie. Um diese zu induzieren, ist es notwendig durch die Synthese eine Differenzierung der Reaktionsräume zu erzielen. Neben diesem Anspruch liegt eine große Herausforderung in einem hohen Durchsatz für ihre Herstellung, der für industrielle Anwendungen unabdingbar ist, sich aber für viele Darstellungsstrategien als schwierig erweist.^[319]

Als gängigste Methode zur Herstellung von Janus-Partikeln wird von Müller et al.^[319] die zweidimensionale Technik beschrieben. Dabei werden Partikel auf einer Oberfläche immobilisiert oder in ein Substrat eingebettet um anschließend die freiliegende, ungeschützte Seite zu funktionalisieren. Dies kann z.B. über nasschemische Modifizierung oder das Abscheiden von Metallen erfolgen. Der Vorteil dieser Methode liegt in der einfachen und schnellen Darstellung wohldefinierter Partikel. Allerdings können pro Ansatz nur eine sehr begrenzte Menge hergestellt werden und somit ist eine Prozessgestaltung mit größerer Skalierung schwierig.^[319]

Eine Weiterentwicklung dieser Methodik ist die Nutzung von Pickering Emulsionen, bei der die Stabilisierung der Tropfen durch Feststoffpartikel erfolgt. In Abhängigkeit der Benetzbarkeit der Partikel mit den beiden Phasen der Emulsion, liegen die Feststoffpartikel dann etwas mehr oder weniger in der polaren oder apolaren Phase. Durch die Orientierung an der Grenzfläche entstehen zwei getrennte Reaktionsräume, die selektiv funktionalisiert werden können.^[323,330,331,334,336]

In Abhängigkeit von der gewählten Syntheseroute sind zahlreiche unterschiedliche Partikelmorphologien darstellbar (siehe Abbildung 87).^[319]

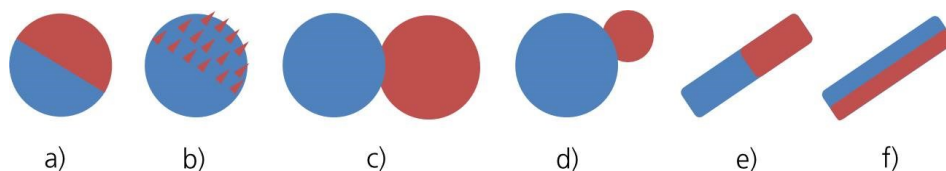


Abbildung 87: Übersicht möglicher Morphologien von Janus-Partikeln: a) Kugel mit zwei Kompartimenten, b) oberflächen-modifiziert mit kleinen Molekülen, c) hantelförmig, d) schneemannförmig, e+f) zylindrisch oder scheibenförmig.

Die gängigsten Herstellungsmethoden für polymere Janus-Partikel sind neben der Phasenseparation^[277,337,338], die auch im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit genutzt wurde, die Mikrofluidik^[339–342] oder das Elektrosinning^[333,343–345].

Pang et al. beschreiben die Phasenseparation als die praktikabelste Methode zur Herstellung polymerer Janus-Partikel, da sie einfach und bequem durchführbar ist.^[321]

Diese Technik kann mit Hilfe dreier Mechanismen erklärt werden: zum einen anhand der Wechselwirkung zwischen Polymer und Monomer oder der Wechselwirkung zwischen zwei unterschiedlichen Monomeren oder der Grenzflächenspannung zwischen den Polymerpartikeln und dem Wasser.^[321]

Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass auf eine simple Art eine Vielzahl streng zweiphasiger Janus-Partikel mit unterschiedlichen Morphologien über eine große Längenskala (einige hundert Nanometer bis wenige Mikrometer) hinweg hergestellt werden können.^[321] Die Einschränkungen der Methode liegen in einer relativ schwierigen Größenkontrolle, einer breiten Größenverteilung und einer hohen Verdünnung der erhaltenen Dispersion.^[321]

Die mikrofluidische Herstellung hat sich zu einer weitverbreiteten Methodik entwickelt. Der Vorteil dieses Verfahrens sowie des Elektrosinnings liegt in den bereits vorhandenen Möglichkeiten zum *Upscaling*, um größere Mengen kontinuierlich zu produzieren.^[321] Beide Verfahren sind allerdings limitiert auf Partikelgrößen von 5 μm - 100 μm .^[321] Ein Druckabfall oder das Verstopfen von Kanälen kann zu Problemen führen. Das Elektrosinning ist zudem nur für leitfähige Polymere geeignet und damit in der Auswahl begrenzt.^[321]

4.5.1.2 Darstellung der wesentlichen Versuchsparameter zur Herstellung von Janus-Partikel aus Polystyrol und Poly-L-Lactid

Das Darstellungsprinzip der Janus-Partikel bestehend aus Polystyrol ($M_w = 192.000 \text{ g/mol}$) und Poly-L-Lactid ($M_w = 145.000 \text{ g/mol}$) beruht auf der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik.

Eine schematische Darstellung der kontinuierlichen Versuchsanlage und der dort ablaufenden Schritte ist in Abbildung 88 dargestellt und im Weiteren näher beschrieben.

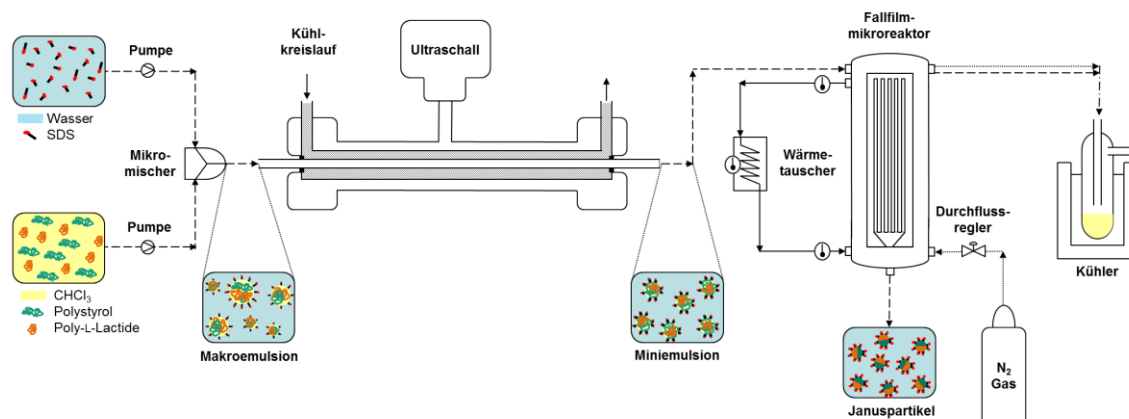


Abbildung 88: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus und der stattfindenden Schritte zur Darstellung von Janus-Partikeln.

Für die Herstellung der organischen Phase (O) wurden definierten Mengen beider Polymere in Chloroform gelöst, sodass die Gesamtpolymerkonzentration jeweils 30 g/L betrug. Die Menge an Polystyrol an der Gesamtpolymermenge wurde schrittweise von 100 % bis 0 % variiert.

Die kontinuierliche Phase (W) bestand aus entionisiertem Reinstwasser mit einem 3 wt% des anionischen Tensids SDS (Natriumdodecylsulfat).

Im ersten Prozessschritt wurde durch kontinuierliches Mischen in einem statischen Mikromischer (SIMM-V4) eine Präemulsion erzeugt.

Das Mischverhältnis von disperser Phase zu kontinuierlicher Phase (O:W) betrug bei jedem Versuch 1:4. Dies entspricht bei einer Gesamtflussrate von 4.10 mL/min, einer Flussrate von 0.82 mL/min für die disperse (O) und 3.28 mL/min für die kontinuierliche Phase (W).

Im zweiten Prozessschritt erfolgte die Herstellung einer Miniemulsion durch Reorganisation und Homogenisierung der Tröpfchen mittels Energieeintrag in der Ultraschalldurchflusszelle.

Im dritten und letzten Prozessschritt wurde über einen Fallfilmmikroreaktor (STACK-1x-FFMR-LAB-V2) das Chloroform abgedampft. Dazu wurde der Reaktor bei einer Temperatur von 60 °C betrieben. Der Stickstoffstrom wurde im Gegenstrom zum flüssigen Strom angelegt und betrug 650 mL/min.

Die Nanopartikeldispersion wurde am Ausgang des FFMRs in Schraubdeckelgläschen gesammelt.

4.5.1.3 Diskussion der Ergebnisse

Anhand der Darstellung polymerer Janus-Partikel wurde in diesem Kapitel gezeigt, dass mit der Methode der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik sich nicht nur zwei unterschiedliche Materialien in einem Partikel kombinieren lassen, sondern durch die Wahl der Materialien eine Kontrolle der Morphologie möglich ist.

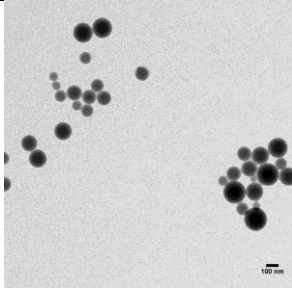
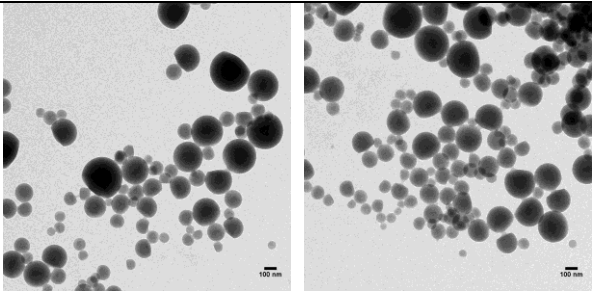
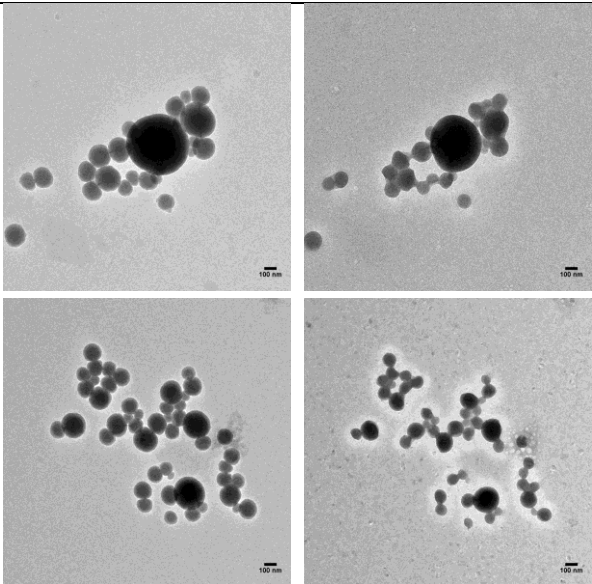
Eine Kontrolle über die Morphologie der dargestellten Nanopartikel konnte anhand von Janus-Partikeln bestehend aus Polystyrol und Poly-L-Lactid mit variierenden Polymeranteilen gezeigt werden.

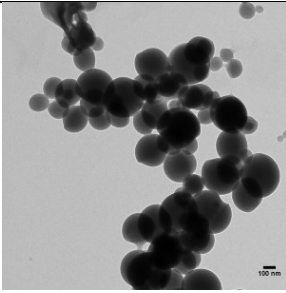
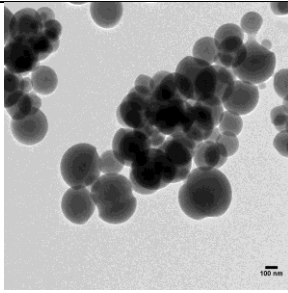
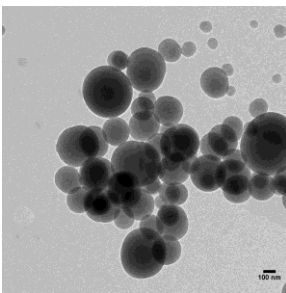
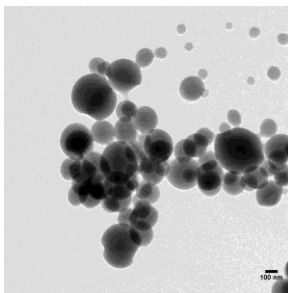
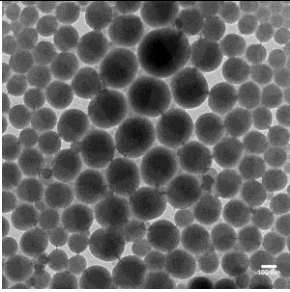
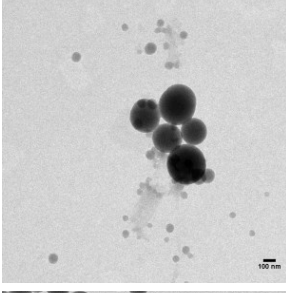
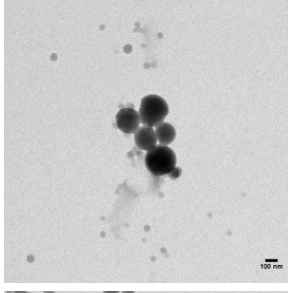
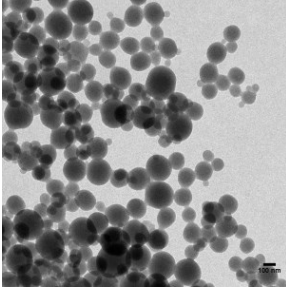
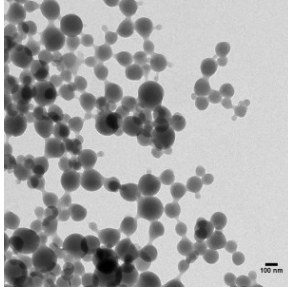
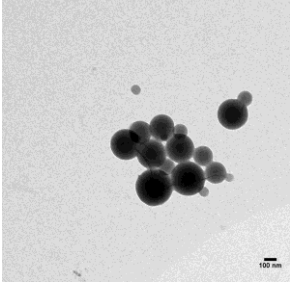
In Tabelle 21 sind die jeweiligen Partikelgrößen und dazugehörige TEM-Bilder der Janus-Partikel aus Polystyrol und Poly-L-Lactid für die variierenden Mischverhältnisse aufgelistet. Die Gesamtpolymerkonzentration betrug in der organischen Phase bei jedem Ansatz immer 30 g/L. Es wurden unter identischen Versuchsbedingungen ebenfalls Partikel hergestellt, die lediglich aus Polystyrol bzw. nur aus Poly-L-Lactid bestehen.

Betrachtet man die Größen der Partikel in Tabelle 21 fällt auf, dass diese zwar eine Größenverteilung mit einer Polydispersität von bis zu 50 % aufweisen, allerdings dennoch bzgl. ihrer Größe sehr dicht zusammen liegen. Die Durchmesser der einzelnen Mischverhältnisse liegen alle zwischen 156 nm und 165 nm (Ergebnis der dynamischen Lichtstreuung am NANO-flex®).

Um tatsächlich Unterschiede in der Morphologie nachzuweisen und die Bildung von Partikeln lediglich aus einem der beiden eingesetzten Polymere auszuschließen, wurden alle Proben mit dem TEM untersucht. Da es bei Poly-L-Lactid im Elektronenstrahl zur Kettenspaltung kommt,^[346,347] wurde unter „pseudo-cryo Bedingungen“ gemessen, d.h. der Probenhalter wurde mit flüssigem Stickstoff gekühlt und so das Schmelzen des Poly-L-Lactid verzögert.

Tabelle 21: Auflistung der jeweiligen Zusammensetzung von Janus-Partikeln aus Polystyrol und Poly-L-Lactid bei einer festen Ausgangskonzentration von 3 wt% Polymer in der organischen Phase sowie der Partikelgröße gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180° und TEM Bildern. Die Ausgangskonzentration der wässrigen SDS-Lösung betrug bei allen Versuchen 3,0 g/L. Die organische und wässrige Phase wurden im Verhältnis 1:4 (O:W) gemischt bei einer Gesamtflussrate von 4,1 mL/min.

Konz. Polystyrol [g/L]	Konz. Polylactid [g/L]	Partikelgröße [nm]	TEM Bilder
30	0	165 ± 71	
24	6	164 ± 83	
19.5	10.5	160 ± 66	

15	15	161 ± 72	   
10.5	19.5	156 ± 75	
6	24	159 ± 80	   
0	30	164 ± 78	

4.5.2 Hybridpartikel aus Polystyrol und Magnetit

In diesem Unterkapitel wird der Einsatz des im Rahmen dieser Arbeit entwickelten kontinuierlichen Prozesses zur effizienten und kontrollierbaren Verkapselung hydrophober Komponenten demonstriert.

Dazu werden Hybridpartikel aus Polystyrol mit unterschiedlichem Massenanteil an magnetischen Eisenoxid-Partikeln dargestellt und charakterisiert.

Die verkapselten Magnetit-Partikel werden darüber hinaus auch als Modell-Substrat aus dem kolloidalen Größenbereich von wenigen Nanometern genutzt.

4.5.2.1 Verkapselung superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikel in einer kolloidalen Polystyrolmatrix

Ferrofluide bzw. magnetische Fluide sind stabile Dispersionen ultrafeiner magnetischer Partikel oder verkapselter magnetischer Partikel in einem organischen oder wässrigen Medium.^[150] Die Stabilisierung der Partikel erfolgt durch ein Tensid, wodurch ein Agglomerieren oder Sedimentieren verhindert wird.^[150] Idealerweise liegen die Partikel, wenn sie einem magnetischen Feld ausgesetzt werden, auch weiterhin gleichmäßig, einzeln dispergiert im Trägermedium vor.^[150]

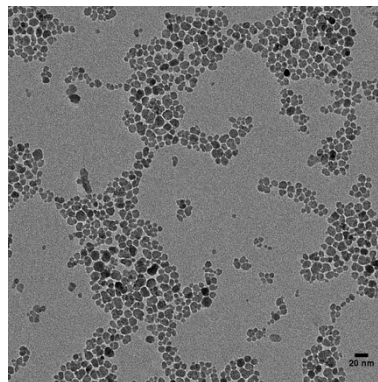


Abbildung 89: TEM-Bilder der Eisenoxid-Partikel (Ferrofluid, Webcraft GmbH, Gottmadingen), die zur Verkapselung in eine Polystyrolmatrix verwendet wurden; 0,3 mg Ferrofluid in 1 mL THF.

Magnetische Nanopartikel besitzen Eigenschaften, die sie für die unterschiedlichsten Anwendungsszenarien vor allem in den Bereichen Biologie und Medizin interessant machen und können dementsprechend maßgeschneidert synthetisiert werden.^[348,349] Sie können zur Immobilisierung von Nukleinsäuren, Proteinen und Enzymen, aber auch für Immunassays und zur Aufreinigung und Isolierung von RNA und DNA eingesetzt werden. Darüber hinaus sind sie zur magnetischen Separierung von Zellen und Proteinen, zum Einsatz in der Kernspintomographie oder der Hyperthermie sowie zur magnetisch kontrollierten Freisetzung von Krebsmedikamenten geeignet.^[146,350–359]

Das Hauptanliegen bei der gezielter Wirkstofffreisetzung (engl. *Drug delivery*) ist es, zur richtigen Zeit eine definierte Menge an Wirkstoff am Zielort im Körper freizusetzen.^[279] Dies kann durch die Verkapselung des Wirkstoffs in einen magnetischen Polymernanopartikel erreicht werden. Nach Injektion in ein Blutgefäß können die Partikel durch das Anlegen eines äußeren Magnetfelds gerichtet am Zielort angereichert werden und dann die Wirkstofffreisetzung induziert werden.^[144,360]

Das Verkapseln magnetischer Partikel (und anderer Komponenten) in einer Polymermatrix bietet viele Vorteile: Einführung neuer, zusätzlicher Funktionalitäten in den Partikel, Verringerung der Toxizität der verkapselten Substanz durch Verhinderung eines direkten Kontakts mit Umgebung und die Möglichkeit einer Oberflächenfunktionalisierung, um die Partikel gezielt an den Wirkort zu adressieren.^[279]

Um für biomedizinische Anwendungen geeignet zu sein, müssen magnetische, polymere Partikel einige Anforderungen erfüllen. Dazu zählen eine hohe kolloidale Stabilität (kein bzw. nur ein sehr langsames Sedimentieren), eine enge Größenverteilung, ein hoher Magnetitanteil, superparamagnetisches Verhalten, keine Toxizität und keine Freisetzung von Eisen.^[279]

Darüber hinaus sollte die zur Verkapselung verwendete Polymermatrix weder kanzerogen, mutagen noch allergen sein, es sollten keine oder nur minimalste immunologische Reaktionen hervorgerufen werden, der freizusetzende Wirkstoff sollte in einer ausreichenden Konzentration verkapselt vorliegen und es wäre wünschenswert, dass die Polymermatrix bioabbaubar ist und auch die eben aufgezählten Kriterien auf die Abbauprodukte zutreffen.^[279,361]

Zur Herstellung magnetischer Polymerpartikel gibt es zwei Wege: zum einen das Beschichten von Eisenoxid-Nanopartikeln mit einer oder mehreren (Polymer-)Schichten oder zum anderen das Verkapseln von Magnetit in einer Polymermatrix.^[279]

In den letzten 25 Jahren gab es eine Reihe von Review-Artikeln zu diesem Thema: Arias et al.^[362] nutzte den Prozess der Emulsionspolymerisation um Magnetit-Poly(Ethyl-2-Cyanoacrylate)-Nanopartikel mit einer Größe von 145 nm zu synthetisieren. Magnetische Partikel aus Poly(D,L-Lactid-co-glycolid) (PLGA)^[363–365] bzw. Poly-ε-Caprolacton (PCL)^[366] mit mittleren Durchmessern zwischen 100 nm und 280 nm wurden durch die Emulgierungs-Diffusions-Technik erhalten. Bei dieser Methode werden sowohl das Polymer als auch die Magnetit-Partikel in einem organischen Lösungsmittel dispergiert und dann mit einer wässrigen Tensid-haltigen Phase emulgiert.

Durch weitere Zugabe von Wasser, sinkt der Lösungsmittelanteil in der wässrigen Phase und weiteres Lösungsmittel diffundiert aus den Tröpfchen heraus in die wässrige Phase. Dadurch kommt es zu einem Präzipitieren des Polymers mit dem Ergebnis einer Bildung von Magnetit-Polymer-Hybridpartikeln.^[279]

Um mit Hilfe von Polymeren magnetische Partikel herzustellen wird oftmals auch die Emulgierung-Verdampfungs-Technik angewendet. Dazu wird eine organische Suspension, die sowohl Magnetit als auch das Polymer enthält, mit einer wässrigen Tensid-haltigen Phase emulgiert. Durch das Verdampfen des organischen Lösungsmittel kommt es zu einem Ausfallen des Polymers und magnetische Nanopartikel mit einer Polymerhülle bilden sich.^[279]

Mittels dieser Methode wurden PLGA-Partikel mit einem mittleren Durchmesser von 280 nm und einem Verkapselungsanteil von bis zu 13,5 wt% Magnetit/Maghemit hergestellt.^[367] PCL-Partikeln mit einer Größe von 160 nm konnten durch Nutzung dieser Technik erfolgreich mit bis zu 25-30 wt% Magnetit^[368] und sogar einem Krebsmedikament^[369] beladen werden

Durch Ausnutzen der Wechselwirkung von entgegengesetzt geladenen Magnetit-Partikeln und Polyelektrolyten können mit dem sogenannten Layer-by-Layer-Verfahren ebenfalls magnetische Partikel erhalten werden. So konnten etwa 640 nm große Kern-Hülle-Partikel mit einem Polystyrol Kern und einer mehrschichtigen Hülle bestehend aus Fe_3O_4 und Polyelektrolyte (Poly(Diallyldimethylammoniumchlorid) (PDADMAC) bzw. Poly(Allylaminhydrochlorid) (PAH)) dargestellt werden. Der Beladungsanteil betrug dabei 10-20 wt%^[370], war jedoch sehr ungleichmäßig verteilt.

Ein bedeutender Vorteil der Miniemulsionstechnik ist die Möglichkeit magnetische Polymerpartikel sowohl ausgehend von hydrophobem (durch Ölsäure stabilisiert)^[371] als auch über eine Doppelemulsion mit hydrophilem (in wässrigem Tensidmedium vorliegend)^[150,372,373] Magnetit zu synthetisieren.

Mit Hilfe der Miniemulsions-Lösungsmittelverdampfungs-technik gelang es bis zu 31 wt% an Magnetit-Partikeln mit einem Durchmesser von 10 nm und sogar 39 wt% an Magnetit-Partikeln mit einem Durchmesser von 25 nm erfolgreich in einer PLLA-Matrix zu verkapseln. Die resultierenden Partikel wiesen eine relative enge Größenverteilung auf bei einem Durchmesser von 80 nm bis 100 nm und mit 10 nm großen, verkapselten Magnetit-Partikeln bzw. einen Durchmesser von 120 nm bei 25 nm großen, verkapselten Magnetit-Partikeln.^[279]

4.5.2.2 Darstellung der wesentlichen Versuchsparameter zur Herstellung von Hybridpartikeln aus Polystyrol und Magnetit

Das Darstellungsprinzip der Hybridpartikel aus Polystyrol ($M_w = 192.000 \text{ g/mol}$) und Magnetit beruht auf der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik.

Zur Herstellung von Hybridpartikeln aus Polystyrol und Magnetit wurde ein Ferrofluid aus Ölsäure-stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikeln ohne weitere Aufreinigung verwendet.

Für die Herstellung der organischen Phase (O) wurde Polystyrol ($M_w = 192.000 \text{ g/mol}$) in Chloroform gelöst, sodass die Polymerkonzentration nach Zugabe einer definierten Menge an Ferrofluid 30 g/L betrug. Die zugegebenen Mengen an Ferrofluid betrugen 3 g/L, 6 g/L, 9 g/L, 12 g/L, 15 g/L, 18 g/L, 24 g/L und 30 g/L.

Die kontinuierliche Phase (W) bestand aus entionisiertem Reinstwasser mit einem 3 wt% des anionischen Tensids SDS (Natriumdodecylsulfat).

Um den Einfluss der Herstellungsmethodik (Batch oder kontinuierlich) auf die hergestellten Partikel vergleichen zu können, wurden jeweils ausreichende Mengen an organischer und wässriger Phase hergestellt, um identische Ausgangsbedingungen für die Darstellung der Partikel zu haben.

Bei der kontinuierlichen Herstellung der Hybridpartikel wurde eine Präemulsion über einen Mikromischer (SIMM-V4) erzeugt und direkt im Anschluss durch die Ultraschalldurchflusszelle weiter zu einer Miniemulsion zerkleinert. Abschließend erfolgte das kontinuierliche Abdampfen des Chloroforms über den Fallfilmmikroreaktor (STACK-1x-FFMR-LAB-V2) bei 60 °C und einem Stickstoffgegenstrom von 650 mL/min.

Das Mischverhältnis von disperser Phase zu kontinuierlicher Phase (O:W) betrug bei jedem Versuch 1:4. Dies entspricht bei einer Gesamtflussrate von 4.10 mL/min, einer Flussrate von 0.82 mL/min für die disperse (O) und 3.28 mL/min für die kontinuierliche Phase (W).

Bei der vergleichenden Batchherstellung wurde die wässrige Phase vorgelegt. Eine Zugabe der organischen Phase erfolgte im Verhältnis 4:1 (W:O), sodass sich stets ein Gesamtvolumen von 20 mL ergab. Diese Mischung der beiden Phasen wurde dann unter Eiskühlung mit einem ULTRA-TURRAX® für 2 min bei 15.000 rpm vordispersiert.

Die so erhaltene Präemulsion wurde unter Eiskühlung für 180 s (20 s Beschallung, 10 s Pause) mit 70 % Amplitude durch einen Ultraschallstab zerkleinert und homogenisiert. Die erhaltene Miniemulsion wurde über Nacht bei 40 °C und 500 rpm auf eine temperierbare Schüttelplatte gestellt, um das Chloroform vollständig zu entfernen.

4.5.2.3 Diskussion der Ergebnisse

Mittels der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik, die im Rahmen dieser Arbeit auf einen kontinuierlichen Aufbau übertragen wurde, erfolgte eine erfolgreiche Verkapselung unterschiedlicher Massenanteile magnetischer Eisenoxid-Partikel in Polystyrol.

Da bereits im vorherigen Kapitel (siehe Kapitel 4.4) Polystyrol als Referenzmaterial gewählt wurde, um die Eignung des entwickelten Aufbaus zur Herstellung polymerer Nanopartikel sowie den Einfluss unterschiedlicher Reaktionsparameter auf die resultierende Partikelgröße zu untersuchen, wurde in diesem Kapitel ebenfalls Polystyrol als Referenz einer Polymermatrix für die Verkapselung hydrophober Magnetits verwendet.

Es gibt jedoch weitere Gründe, wieso Polystyrol zur Verkapselung hydrophober Komponenten für biomedizinische Anwendungen gut geeignet ist^[374]: Polystyrol ist ein kostengünstiges, hydrophobes Polymer, dass zum einen durch physikalische Absorption mit Antikörpern oder Proteinen funktionalisiert werden kann oder auch durch Einführung funktioneller Gruppen (z.B. Carboxy) kovalent an Antikörper, Proteine oder Zellen gekoppelt werden kann.^[150]

In Tabelle 22 ist die Konzentration an Polystyrol (3 wt%), die jeweils bei den einzelnen Versuchen eingewogene Menge an Magnetit in %wt (Gewichtsprozent), das Verhältnis von Magnetit zu Polystyrol sowie die Größe der dargestellten Partikel aufgeführt. Als Referenz dienen Versuche unter identischen Bedingungen ohne Magnetit. Die untersuchten, zu verkapselnden Anteile an Magnetit betrugen 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 80 % und 100 % bezogen auf die eingewogene Menge an Polymer.

Tabelle 22: Partikelgröße von Hybridpartikeln aus Polystyrol und Magnetit mit einem Massenanteil an Magnetit von 0 % - 100 % im Verhältnis zu Polystyrol gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°.

Konz. Polystyrol [wt%]	Konz. Magnetit [wt%]	Magnetit : Polystyrol [wt%]	Partikelgröße [nm]
3	0	0	132 ± 68
3	0,3	10	141 ± 75
3	0,6	20	128 ± 61
3	0,9	30	139 ± 70
3	1,2	40	127 ± 77
3	1,5	50	134 ± 73
3	1,8	60	136 ± 69
3	2,4	80	146 ± 71
3	3,0	100	142 ± 72

Betrachtet man die mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180° gemessene Größe der Partikel in Tabelle 22, so besitzt die Referenzprobe ohne Zugabe an Magnetit eine mittlere Partikelgröße von 132 nm ± 68 nm. Die mittlere Partikelgröße innerhalb der Versuchsreihe liegt zwischen 127 nm bei 40 wt% verkapseltem Magnetit und 146 nm bei 80 wt% verkapseltem Magnetit. Die Größenabweichung schwankt dabei zwischen ± 61 nm bei 20 wt% verkapseltem Magnetit und ± 77 nm bei 40 wt% verkapseltem Magnetit. Insgesamt liegen die mittleren Partikelgrößen relativ eng zusammen, mit einer Abweichung von weniger als 10 %. Weiterhin besteht weder ein Trend bezüglich einer Zu- oder Abnahme der Partikelgröße noch einer Abweichung bei zunehmendem Anteil an verkapseltem Magnetit.

In Abbildung 90 sind TEM-Bilder von Polystyrol-Partikeln mit ansteigendem Anteil an verkapseltem Magnetit (A) 0 %, (B) 10 %, (C) 20 %, (D) 30 %, (E) 40 %, (F) 50 %, (G) 60 %, (H) 80 % und (I) 100 % und der jeweiligen Angabe der mittleren Größe. Alle Messungen und Bilder der Partikel wurden ohne weitere Aufreinigung nach der kontinuierlichen Herstellung durchgeführt und aufgenommen.

Bei allen Bildern fällt auf, dass die Eisenoxid-Partikel nicht gleichmäßig innerhalb der Hybridpartikel verteilt sind, sondern es an einem Pol zu einer Anhäufung des Magnetits kommt. Dies ist auf eine Phasenseparation von Polymer und Magnetit innerhalb der Tröpfchen in der Miniemulsion während des Abdampfens des Lösungsmittels bei der Herstellung zurückzuführen.

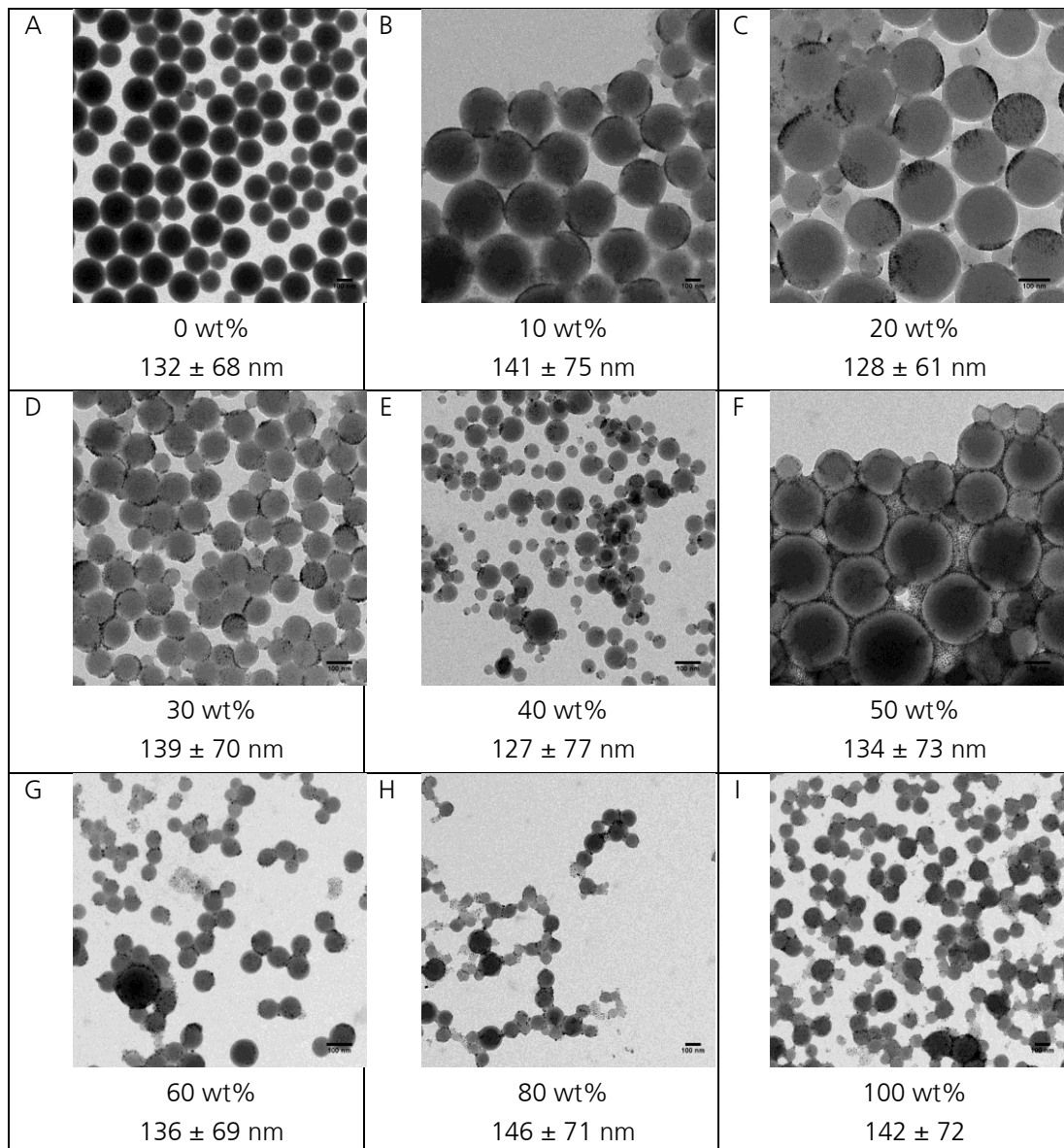


Abbildung 90: TEM-Bilder von Polystyrol-Partikeln mit ansteigendem Anteil an verkapseltem Magnetit (A) 0 %, (B) 10 %, (C) 20 %, (D) 30 %, (E) 40 %, (F) 50 %, (G) 60 %, (H) 80 % und (I) 100 % und der jeweiligen Angabe der mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180° gemessenen Größe sowie die Abweichung der Partikel.

Bis zu einem Anteil von 40 wt% an verkapseltem Magnetit sind keine Eisenoxid-Partikel außerhalb der Partikel auszumachen. Das TEM-Bild bei einem Anteil von 50 wt% an verkapseltem Magnetit erscheint gegenüber allen anderen Versuchen dieser Reihe außergewöhnlich, da sich dort ein großer Teil der Magnetit-Partikel in den Zwischenräumen der Hybridpartikel aus Polystyrol und Magnetit befindet. Schon bei einem Anteil von 60 wt% an verkapseltem Magnetit sehen die TEM-Aufnahmen ähnlich zu den anderen aus; allerdings sind oberhalb 60 wt% Verkapselungsgrad, sowohl einzelne freie Magnetit-Partikel als auch kleinere Agglomerate im Bereich von etwa 100 nm zu beobachten.

Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass bis 60 wt% eine maximale Verkapselungseffizienz unter den Herstellungsbedingungen für diese Magnetit-Partikel in dem hier verwendeten Polystyrol erreicht wurde. Dies steht in Einklang mit den Ergebnissen von Urban et al.^[279], die unter optimierten Reaktionsparametern einen maximalen Verkapselungsgrad von 39 wt% an verkapseltem Magnetit erzielen konnten. Im Unterschied zu den hier durchgeführten Versuchen wurden in deren Experimenten jedoch anstelle des Polystyrols von Urban et al.^[279] PLLA verwendet.

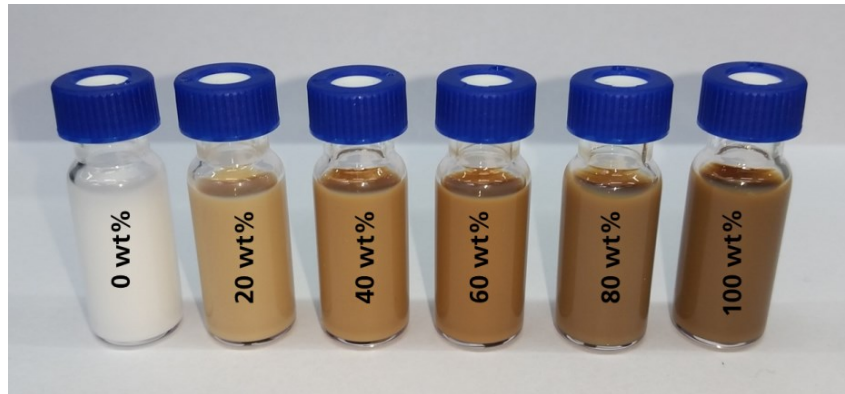


Abbildung 91: Hybridpartikel bestehend aus Polystyrol mit zunehmendem Massenanteil an Magnetit von 0 wt%, 20 wt%, 40 wt%, 60 wt% und 100 wt% im Verhältnis zum Polymeranteil.

Wie auch in Abbildung 91 erkennbar, weisen alle kontinuierlich hergestellten Proben als Dispersionen mit Massenanteilen zwischen 0 wt% und 100 wt% an verkapseltem Magnetit ein absolut homogenes Aussehen auf. Bei keiner der Proben wurde auch über einen Zeitraum von 18 Monaten hinweg ein Ausfallen von Partikeln beobachtet. Aufgrund ihrer Größe und spezifischen Dichte kam es zu einem Sedimentieren der Proben, diese konnten jedoch ohne großen Aufwand redispersiert werden.

Um die Qualität des entwickelten kontinuierlichen Verfahrens mit der etablierten Batchmethode zu vergleichen, wurde unter vergleichbaren Bedingungen im Batch-Verfahren Magnetit in unterschiedlichen Gewichtsanteilen in Polystyrol verkapselt.

Bei denen im Rahmen dieser Versuchsreihe durchgeführten Batchversuchen wurden im Unterschied zu den anderen Batches ein ULTRA-TURRAX® (IKA®-Werke GmbH & Co. KG Staufen, Deutschland) zum Vordispersieren und eine beheizte Schüttelplatte zum Abdampfen verwendet, um eine Beeinflussung der Magnetit-Partikel durch die normalerweise eingesetzte magnetische Rührplatte ausschließen zu können.

Die erste Beobachtung bei der Herstellung von Polystyrol-Partikeln mit verkapseltem Magnetit im Batch ist das Ausfallen eines dunklen, magnetischen Feststoffs – unverkapselter Magnetit – bei allen Proben. Bei 10 wt% und 20 wt% an Magnetit ist der unverkapselte Anteil äußerst gering, ab 30 wt% an Magnetit steigt er stark an.

Dies legt die Vermutung nahe, dass mit den verwendeten Edukten und den gewählten Reaktionsparametern der Verkapselungsanteil auf etwa 20 wt% begrenzt ist. Bei kontinuierlich prozessierten Proben fällt bei keiner der Proben Feststoff aus, sogar bis hin von einem eingesetzten Anteil von 100 wt% Magnetit.

Betrachtet man Abbildung 92 fällt auf, dass die im Batch hergestellten Polystyrol-Partikel mit 20 wt% Magnetit etwas kleiner sind als die kontinuierlich hergestellten. Allerdings ist die Verteilung der Magnetit-Partikel innerhalb der Hybridpartikel bei den diskontinuierlich hergestellten Partikeln deutlich inhomogener im Vergleich zu den kontinuierlich hergestellten Partikeln und es befinden sich außerdem etliche Magnetit-Partikel außerhalb der Hybridpartikel, was bei den kontinuierlich hergestellten Partikeln erst ab einem Anteil von 50 wt% an Magnetit der Fall ist.

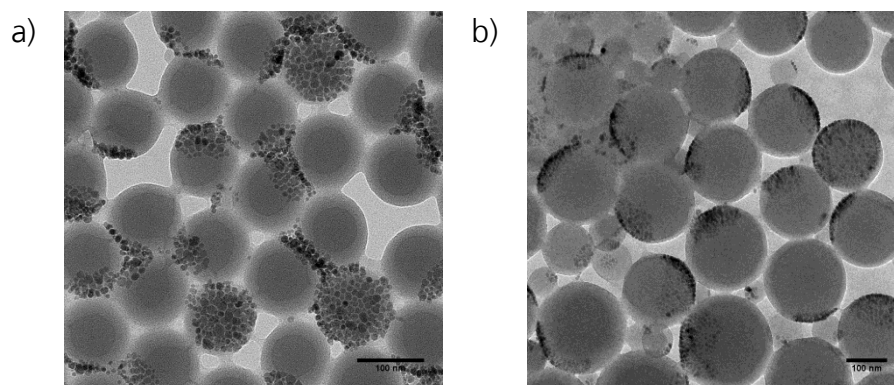


Abbildung 92: TEM-Bilder von Polystyrol-Partikeln mit 20 wt% Magnetit hergestellt im a) Batch-Verfahren bzw. durch b) kontinuierliches Prozessieren.

Vergleicht man die mittlere Größe und deren Verteilung bei den unterschiedlichen Herstellungsmethoden (Tabelle 23), liegen diese sehr eng beieinander wobei die im Batch dargestellten Partikel meist etwas kleiner sind als die kontinuierlich produzierten. Generell gibt es keinen qualitativen Unterschied zwischen dem Batch-Verfahren und der kontinuierlichen Prozessierung.

Tabelle 23: Vergleich der mittleren Partikelgröße und deren Verteilung bei der Herstellung von Hybridpartikeln aus Polystyrol und Magnetit mit einem Massenanteil an Magnetit von 0 -100 % im Verhältnis zur Polystyrolkonzentration im Batch-Verfahren bzw. bei kontinuierlicher Prozessierung gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°.

Anteil an verkapseltem Magnetit in Polystyrol [wt%]	Partikelgröße [nm]	
	Batch-Verfahren	Kontinuierliches Verfahren
0	125 ± 66	132 ± 68
10	133 ± 72	141 ± 75
20	117 ± 59	128 ± 61
30	141 ± 73	139 ± 70
40	135 ± 75	127 ± 77
50	129 ± 71	134 ± 73
60	142 ± 70	136 ± 69
80	141 ± 76	146 ± 71
100	137 ± 70	142 ± 72

Beim optischen Vergleich von im Batch bzw. kontinuierlich hergestellten Proben (siehe Abbildung 93) ist deren unterschiedliche Farbe bei vergleichbarer Polymer-Magnetit-Konzentration augenfällig.

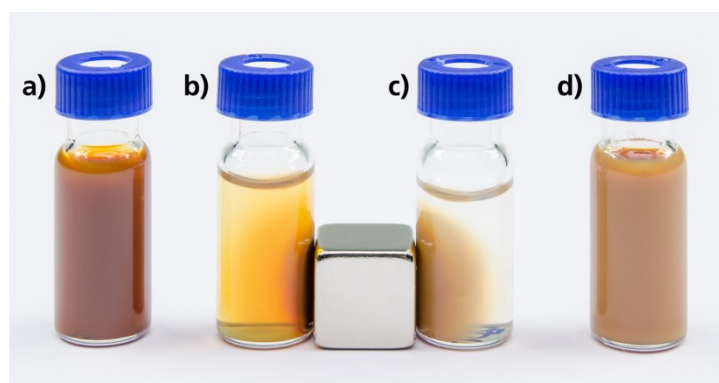


Abbildung 93: Alle vier Proben bestehen aus Polystyrol-Nanopartikel mit 20 wt% an verkapseltem Magnetit in Wasser. Die beiden Proben a) und b) wurden im Batch hergestellt, die beiden Proben c) und d) mit dem kontinuierlichen Verfahren. Die Proben a) und d) sind im dispergierten Zustand, die Proben b) und c) wurden für drei Stunden - wie auf dem Bild zusehen – dem Magnetfeld eines Dauermagneten ausgesetzt.

Alle dargestellten Hybridpartikel bestehen aus Polystyrol mit unterschiedlichen Anteilen an verkapseltem Magnetit und besitzen superparamagnetische Eigenschaften.

Setzt man die im Batch-Verfahren hergestellte Probe mit 20 wt% an verkapseltem Magnetit sowie die entsprechende kontinuierlich prozessierte Probe für drei Stunden dem Magnetfeld eines Dauermagneten aus, diffundieren die magnetischen Hybridpartikel hin zum Dauermagneten (siehe Abbildung 93).

Bei der kontinuierlich hergestellten Probe (Abbildung 93c) sammeln sich alle Partikel innerhalb von Minuten bis maximal einer halben Stunde an der Gefäßwandseite zum Magneten hin.

Bei der im Batch hergestellten Probe kommt es zwar auch zu einer Aufkonzentrierung der Partikel an der Gefäßwandseite hin zum Magneten, allerdings weist das gesamte Probenvolumen noch eine bräunliche Färbung auf, was als Folge der vorhandenen nicht verkapselten Magnetit-Partikel verständlich ist.

Die superparamagnetischen Eigenschaften der Partikel sind so groß, dass sie nach Aufkonzentrierung der Partikel am Gefäßrand hin zum Magneten in der Lage sind, beim langsamen Bewegen des Probengefäßes den Magneten hinter sich herzuziehen. Darüber hinaus führen die paramagnetischen Eigenschaften dazu, dass das gesamte Probengefäß nach einem Wegziehen vom Magneten sich über eine gewisse Distanz hinweg selbstständig zurück zum Magneten bewegen kann.

Dieser Versuch wurde nur mit den jeweiligen Proben mit einem verkapselten Anteil von 20 wt% an Magnetit durchgeführt. Der verwendete Magnet ist würfelförmig mit einer Kantenlänge von 12 mm, einem Eigengewicht von 12,88 g sowie einer Haftkraft von 6,3 kg (Webcraft GmbH Supermagnete, Gottmadingen, Deutschland: Würfelmagnet 12 mm, Neodym, N48, vernickelt, Haftkraft ca. 6,3 kg).

Die Probengefäße wurden mit 1,5 mL Partikeldispersion befüllt und hatten jeweils ein Gesamtgewicht von 4,06 g. Die berechnete Masse an Magnetit in 1,5 mL Probenvolumen beträgt lediglich 1,8 mg.

Bei diesem Experiment gab es einen signifikanten Unterschied bei der Entfernung über die das Probengefäß gezogen wurde zwischen der im Batch und der kontinuierlich hergestellten Probe. Die im Batch hergestellte Probe wurde nur bis zu einer Distanz von 3 mm zurück zum Magneten gezogen, die kontinuierlich prozessierte Probe jedoch über eine Entfernung von 6 mm, also genau doppelt so weit.

Dies ist ein zusätzliches Indiz dafür, dass bei den kontinuierlich hergestellten Partikeln kein freier Magnetit außerhalb der Hybridpartikel vorliegt, wie es bei der Batch-Methode beobachtet werden konnte. Das bedeutet, dass insgesamt mehr Eisenoxid-Partikel in der Gesamtmenge der Kolloiddispersion vorhanden sind.

Bei näherer Betrachtung von Abbildung 92 fällt auf, dass in der im Batch hergestellten Probe deutlich mehr Partikel frei außerhalb der Polymerpartikel vorliegen.

Eine anisotrope Verteilung dieser unverkapselten Eisenoxid-Partikel hin zu einem Pol der Hybridpartikel scheint bei den kontinuierlich hergestellten Partikeln stärker ausgeprägt zu sein. Das könnte evtl. die Orientierung des Magnetits innerhalb der Matrix in einem Magnetfeld begünstigen und somit zu dem beobachteten Effekt beigetragen haben.

4.5.3 Verkapselung von Nilrot in Polystyrol- bzw. Poly(Lactid-co-Glycolid)

Nachdem in den beiden vorangegangenen Kapitel gezeigt werden konnte, dass der im Rahmen dieser Arbeit entwickelte kontinuierliche Prozess sowohl zur Darstellung polymerer Janus-Partikel aus Polystyrol und Poly-L-Lactid als auch zur effizienten und kontrollierbaren Verkapselung hydrophober Eisenoxidpartikel genutzt werden kann, wird in diesem Kapitel nun die Verkapselung des lipophilen Fluoreszenzfarbstoffes Nilrot in zwei unterschiedliche Polymermatrices (Polystyrol bzw. (Poly(D,L-lactid-co-glycolid) (PLGA)) untersucht. Durch die Beladung eines Hybridpartikels mit einem fluoreszierenden Farbstoff erhält man zum Beispiel die Möglichkeit, die Zellaufnahme dieser Partikel zu untersuchen.

Der verkapselte Farbstoff wird darüber hinaus auch als Modell-Substrat aus dem molekularen Größenbereich genutzt.

Es werden vergleichbare Proben sowohl kontinuierlich als auch im Batch hergestellt, um mit Hilfe der solvatochromen Eigenschaften des Nilrots zu überprüfen, ob die Herstellungsmethode einen Einfluss auf die Eigenschaften der dargestellten Partikel hat.

4.5.3.1 Besonderheiten des Farbstoffs Nilrot

Nilrot oder auch Nilblau-Oxazon (Strukturformel siehe Abbildung 94a) ist ein hydrophober, fluoreszierender Farbstoff und gehört zu der Familie der Phenoxazin-Farbstoffe.

Die Elektronendichte des 9-Diethylamino Substituent ist über das Ringsystem hinweg bis zur Carbonylgruppe delokalisiert (Mesomerie in Abbildung 94). Diese spezielle Anordnung der Elektronen im Molekül ist vermutlich der Grund für die besonderen Fluoreszenzeigenschaften des Nilrots.^[375]

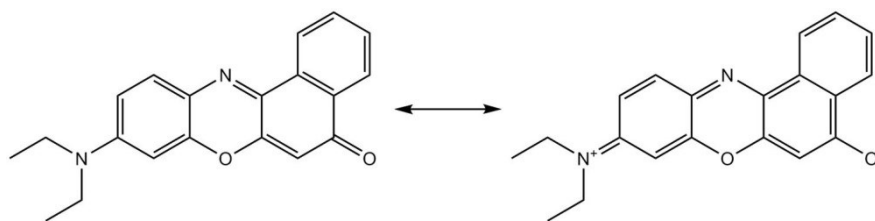


Abbildung 94: Strukturformel und Mesomerie des Fluoreszenzfarbstoffs Nilrot.

Die Dipolmomentänderung ($\Delta\mu$) zwischen dem angeregten Zustand (μ_A) und dem Grundzustand (μ_G) des Farbstoffs wird je nach Paper mit einem Wert zwischen 1,0 D^[376] (Debye) bis hin zu 11 D^[377] angegeben.^[378–381]

$$\Delta\mu = \mu_A - \mu_G. \quad (87)$$

Der Farbstoff ist zwar in einer großen Anzahl von Lösungsmitteln und Lösungsmittelgemischen löslich, besitzt aber eine extrem schlechte Löslichkeit in Wasser (< 1 mg/L).^[382]

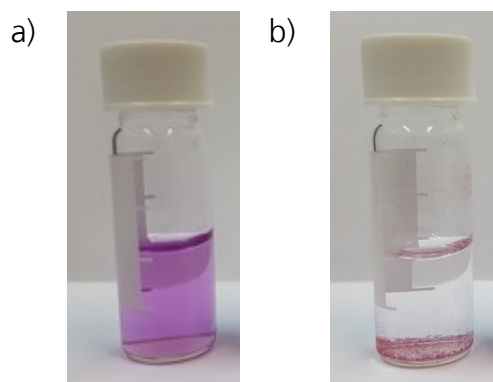


Abbildung 95: a) 50 μ L Nilrot in THF (0,3 g/L) gelöst und mit 2 mL Wasser vermischt; b) Probe nach Abdampfen des THF.

Aufgrund des sehr guten Emissionsvermögens und seiner solvatochromen Eigenschaften im Vergleich zu anderen Farbstoffen besteht seit Jahrzehnten großes Interesse an Nilrot als Sonde.^[375,382–391] Das solvatochrome Verhalten in unterschiedlichen Lösungsmitteln (vergleiche Tabelle 24) wird einem *Twisted Intramolecular Charge Transfer* (TICT, engl. gedrehter intramolekularer Ladungstransfer) zugeschrieben, der exponentiell von der lokalen Polarität des Mediums abhängt.^[379] Aufgrund der hohen Sensitivität gegenüber der Polarität der unmittelbaren Umgebung wurde Nilrot schon oftmals genutzt um die lokale Polarität in heterogenen Systemen wie Mizellen^[392] und inversen Mizellen^[386], Dendrimeren^[393–395], Liposomen^[396,397], Proteinen^[398,399], Zeolithen^[379] und ionischen Flüssigkeiten^[387,400] zu untersuchen.

Tabelle 24: Abhängigkeit vom Lösungsmittel der Absorptions- und Emissionsmaxima sowie der relativen Fluoreszenzintensität von Nilrot.^[375]

Lösungsmittel	$\lambda_{\text{max,abs}}$ [nm]	$\lambda_{\text{max,emi}}$ [nm]	Relative Fluoreszenzintensität
Wasser	591	657	18
Ethanol	559	629	355
Aceton	536	608	687
Chloroform	543	595	748
iso-Amylacetat	517	584	690
Xylol	523	565	685
n-Dodecan	492	531	739
n-Heptan	484	529	585

Die Daten in Tabelle 24 zeigen eine stärkere Korrelation der Fluoreszenzintensität mit der Stärke der Wasserstoffbrückenbindungen als mit der Polarität des Mediums.^[375] Der bathochrome Effekt hingegen ist, passend zu einer Stabilisierung der relativ polaren angeregten Zustände, eine Funktion der Polarität des Solvenz.^[375]

Die Löslichkeitsvermittlung für Nilrot durch Verkapselung wurde in der Forschung zur Wirkstofffreisetzung (*Drug Delivery*) in Bezug auf die hydrophoben Wechselwirkungen des Farbstoffs mit dem unpolaren Inneren des nanopartikulären Gerüsts diskutiert.^[383,401–406] Obwohl Nilrot vielfach als hydrophobes Substrat genutzt wird, gibt es nur sehr wenige Veröffentlichungen, die sich mit dem Aggregations- und Grenzflächenverhalten auseinandersetzen.

Die nicht-kovalente Selbstorganisation von 2-Deoxyuridine modifiziertem Nilrot wurde von Varghese und Wagenknecht^[407] untersucht. Dabei konnten sie im Unterschied zum unfunktionalisierten Farbstoff eine hypsochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums von $\lambda_{\text{max,abs}} = 570$ nm in Methanol zu $\lambda_{\text{max,abs}} = 540$ nm beim Übergang zum polareren Wasser beobachten. Es wurde vermutet, dass diese außergewöhnliche hypsochrome Verschiebung auf die Bildung von H-Typ artigen Aggregaten zurückzuführen sei.

Bei H-Aggregaten kommt es zu einer hypsochromen Verschiebung („Blauverschiebung“) bei fehlender oder nur noch äußerst geringer Fluoreszenz.^[408] Damit verhalten sich H-Aggregate komplementär zu den verbreiteten J-Aggregaten. Bei diesen kommt es durch den Einfluss des Lösungsmittels, von Additiven oder der Konzentration zu einer supramolekularen Selbstorganisation, welche eine bathochrome Verschiebung („Rotverschiebung“) hin zu längeren Wellenlängen bei gleichzeitiger Beobachtung höherer Absorptionskoeffizienten bedingt.^[408]

Ebenso wurde die Bildung von H-Aggregaten bei hohen Beladungsdichten von Nilrot in Zucker-PEG-basierten Polymeraggregaten in wässriger Lösung^[409] sowie dendritischen, mehrschaligen Kern-Hülle-Nanopartikeln^[393] beobachtet. Spektroskopische Messungen zeigen, dass es bei hoher Farbstoffkonzentration in wässrigen Lösungen zur Bildung von nicht-emittierenden H-Typ artigen Dimeren kommt.^[383]

Kurniasih et al.^[383] untersuchten mit UV/VIS- und Fluoreszenzspektroskopie sowie dynamischer Lichtstreuung und Rasterkraftmikroskopie (AFM, engl. *atomic/scanning force microscopy*) das Verhalten von Nilrot in wässriger Tensidlösung (SDS, CTAB (Cetyltrimethylammoniumbromid) und Triton X-100 (*tert*-Octylphenylether)) auch unter Bildung mizellarer Strukturen.

Aufgrund ihrer Ergebnisse bei den durchgeführten Löslichkeitsversuchen, ergibt sich die Schlussfolgerung, dass der Farbstoff nicht in die hydrophoben Regionen der Mizellen vordringt, sondern sich an der Oberfläche der Mizellen in der äußeren polaren Grenzregion anordnet.^[383]

Liegt Nilrot in geringen Konzentrationen in wässrigen Lösungen vor, besitzt es eine hohe Fluoreszenzintensität, da der Abstand der einzelnen Moleküle voneinander groß genug ist. Wird die Konzentration allerdings erhöht und übersteigt einen für jedes System spezifischen Wert, kommt es zu einer Blauverschiebung des Absorptionsmaximums und einer graduellen Abnahme der Fluoreszenzintensität. Das liegt daran, dass mit zunehmender Farbstoffkonzentration die Anzahl nicht-emittierender H-Typ Dimere ansteigt.^[383] Das Löschen der Fluoreszenz wird durch ein Übereinanderschichten der aromatischen Ringsysteme verursacht. Dabei kann das Löschen als ein Indikator für intermolekulare π - π Wechselwirkung der Chromophore angesehen werden.^[383]

Aufgrund seiner außergewöhnlichen Eigenschaften kann Nilrot nicht als Standardmodell für hydrophobe Proben verwendet werden und muss mit Bedacht genutzt werden, wenn es als lokale Sonde zur Bestimmung von Mikropolaritäten eingesetzt wird.^[383]

Die besonderen Eigenschaften des Farbstoffs Nilrot legen nahe, auch seine Freisetzung aus hydrophober Verkapselung, aufgrund der Änderung seiner Eigenschaften, einzusetzen.

4.5.3.2 Darstellung der wesentlichen Versuchsparmeter zur Verkapselung von Nilrot in Polystyrol- bzw. Poly(Lactid-co-Glycolid)

Das Darstellungsprinzip der Hybridpartikeln aus Polystyrol ($M_w = 192.000 \text{ g/mol}$) bzw. PLGA (Poly(D,L-lactid-co-glycolid)) (Resomer® RG 752 H) und Nilrot beruht auf der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik.

Für die Herstellung der organischen Phase (O) wurde eine Lösung mit einer Konzentration von 30 g/L des jeweiligen Polymers zusammen mit Nilrot (30 mg/L) in Chloroform vorbereitet.

Die kontinuierliche Phase (W) bestand aus entionisiertem Reinstwasser mit einem 3 wt% Anteil des anionischen Tensids SDS (Natriumdodecylsulfat).

Bei der kontinuierlichen Verkapselung des Nilrots in einer kolloidalen Polymermatrix wurde die Präemulsion mit Hilfe eines Mikromischers (SIMM-V4) hergestellt.

Direkt im Anschluss wurde diese dann durch die Ultraschalldurchflusszelle zu einer Miniemulsion weiterverarbeitet. Das Chloroform wurde über den Fallfilmmikroreaktor (STACK-1x-FFMR-LAB-V2) bei 60 °C und einem Stickstoffgegenstrom von 650 mL/min abgedampft.

Auch bei der Herstellung im Batch wurden die wässrige Phase und die organische Phase im Verhältnis 4:1 gemischt. Es wurde stets ein Gesamtvolumen von 20 mL hergestellt. Zur Erzeugung einer Makroemulsion wurden beide Phasen mit einem Magnetrührer für 60 min schnell gerührt.

Die so erhaltene Präemulsion wurde unter Eiskühlung für 180 s (20 s Beschallung, 10 s Pause) mit 70 % Amplitude durch Ultraschalleintrag zerkleinert und homogenisiert. Die erhaltene Miniemulsion wurde in einen 50 mL Weithalsrundkolben umgefüllt und über Nacht (18 h) bei 40 °C im Ölbad gerührt um das organische Lösungsmittel komplett zu entfernen.

Freisetzungsversuche wurden durchgeführt, indem 1 mL der kontinuierlich hergestellten Probe (PLGA) mit 1 mL Chloroform versetzt und dann für 3 min bei 2400 rpm/min mit einem Vortexer kräftig durchmischt wurde. Die so erhaltene Präemulsion wurde analog zur Herstellung im Batch unter Eiskühlung für 180 s (20 s Beschallung, 10 s Pause) mit 70 % Amplitude durch Ultraschalleintrag zerkleinert und homogenisiert.

Die daraus resultierende Miniemulsion wurde aufgrund der geringen Probenmenge nur für 3 Stunden bei 40 °C und auf einer temperierbaren Schüttelplatte gerührt, um das Chloroform vollständig zu entfernen.

4.5.3.3 Diskussion der Ergebnisse

In diesem Kapitel wurde der hydrophobe Fluoreszenzfarbstoff Nilrot in zwei unterschiedliche Polymermatrices (Polystyrol bzw. PLGA (Poly(D,L-lactid-co-glycolid))) verkapselt.

Es werden Proben sowohl kontinuierlich als auch im Batch hergestellt, um den Einfluss der Herstellungstechnik auf die dargestellten Partikel zu untersuchen.

Bei Verkapselung von Nilrot in Polystyrol haben die Partikel einen mittleren Durchmesser von 131 nm (Batch-Verfahren) bzw. 125 nm (kontinuierliches Prozessieren). Wird Nilrot unter identischen Bedingungen in PLGA verkapselt, haben die dargestellten Partikel einen Durchmesser von 154 nm (Batch-Verfahren) bzw. 143 nm (kontinuierliches Prozessieren). Damit sind die Partikel mit einer PLGA-Matrix ungefähr 20 nm größer und weisen eine etwas engere Größenverteilung auf als die Partikel mit Polystyrol-Matrix.

Bei Betrachtung von Tabelle 25 fällt auf, dass die im kontinuierlichen Verfahren hergestellten Partikel geringfügig kleiner sind und eine minimal engere Größenverteilung aufweisen im Vergleich zum Batch-Verfahren.

Tabelle 25: Vergleich der Partikelgrößen bei der Verkapselung von Nilrot in Polystyrol bzw. PLGA (Poly(D,L-lactid-co-glycolid)) im Batch bzw. kontinuierlich prozessiert gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°.

Polymer	Partikelgröße [nm]	
	Batch-Verfahren	Kontinuierliches Verfahren
Polystyrol	131 ± 68	125 ± 63
PLGA (Poly(D,L-lactid-co-glycolid))	154 ± 59	143 ± 54

Bei der Herstellung der Partikel fiel auf, dass beide im Batch-Verfahren erzeugten Proben wie erwartet, eine intensive Rosafärbung aufwiesen. Beim kontinuierlichen Prozess hingegen trat sowohl bei Verwendung von Polystyrol als auch bei PLGA während des Verdampfens über die Länge des Fallfilmmikroreaktors hinweg ein Farbumschlag von rosa nach blau auf (siehe Abbildung 96).

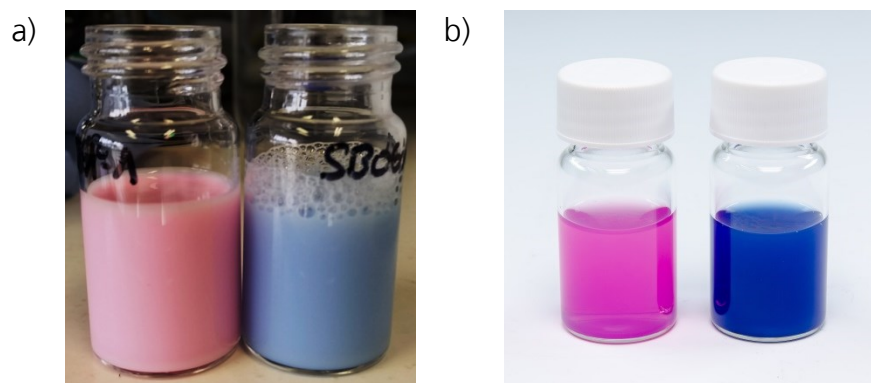


Abbildung 96: a) Nilrot verkapselt in Polystyrol-Partikel im Batch-Verfahren (links) bzw. hergestellt durch kontinuierliches Prozessieren (rechts). b) Nilrot verkapselt in Poly(Lactid-co-Glycolid) im Batch-Verfahren (links) bzw. hergestellte durch kontinuierliches Prozessieren (rechts).

Beide Proben wurden jeweils unter vergleichbaren Bedingungen hergestellt, lediglich mit dem Unterschied in der Prozessführung: Batch-Methode versus kontinuierliches Verfahren. Da beim Abdampfen die Farbänderung aufgetreten ist, ist der Effekt vermutlich durch die Geschwindigkeit des Abdampfens begründet.

Die Mikrokanäle des FFMR haben ein Innenvolumen von 0,612 mL, d.h. bei einer Gesamtflussrate von 4,10 mL/min beträgt die Verweildauer lediglich 0,15 Sekunden.

Die etwas höhere Temperatur von 65 °C beim kontinuierlichen Abdampfen im Gegensatz zu den 40 °C des Ölbad bei Batchprozess sollten nicht der Grund für den Farbunterschied sein.

Die Beobachtung dieses gravierenden Farbunterschiedes und die hypsochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums mit der deutlichen Farbänderung weist auf die Bildung von aggregierten Farbstoffmolekülen als sogenannte H-Aggregate hin. Durch das extrem schnelle Abdampfen des organischen Lösungsmittels aus der Miniemulsion haben die Farbstoffmoleküle keine Zeit, sich in der äußeren polaren Grenzregion in der Grenzfläche zum stabilisierenden Tensid anzuordnen, wie es Nilrot laut Studien von Kurniasih et al.^[383] bevorzugt tut, sondern wurde innerhalb des Polymerpartikels eingeschlossen, also in deutlich hydrophoberer Umgebung lokalisiert.

Wie bereits in der Einleitung beschrieben wurde (vergleiche Kapitel 4.5.3.1), zählt Nilrot zu den positiv solvatochromen Chromophoren und besitzt eine hohe Abhängigkeit der Farbigkeit von der Polarität des Lösungsmittels und der lokalen Umgebung sowie des pH-Wertes.

Bei den Proben, bei den Nilrot in Polystyrol verkapselt wurde, konnten keine Absorptions- und Fluoreszenzspektren gemessen werden, da die Proben sehr trübe waren und nach einer Verdünnung der Proben die Signale viel zu schwach waren.

Die Methode der „front face“-Messung (vergleiche Abbildung 45b in Kapitel 3.5) mit Nutzung einer Dreiecksküvette als erfolgsversprechende Methode zur spektralen Charakterisierung wäre möglich, war aber leider nicht verfügbar.

Im Weiteren werden nur noch die Partikel mit PLGA-Matrix diskutiert. Zur Vereinfachung wird im Folgenden die Probe, bei der Nilrot im Batch-Verfahren in PLGA verkapselt wurde, mit PLGA-Batch bezeichnet und die Probe, bei der Nilrot im kontinuierlichen Prozess in PLGA verkapselt wurde, mit PLGA-konti bezeichnet.

Die stark unterschiedlichen Verläufe der Absorptionsspektren von PLGA-Batch und PLGA-konti sind in Abbildung 97 aufgetragen.

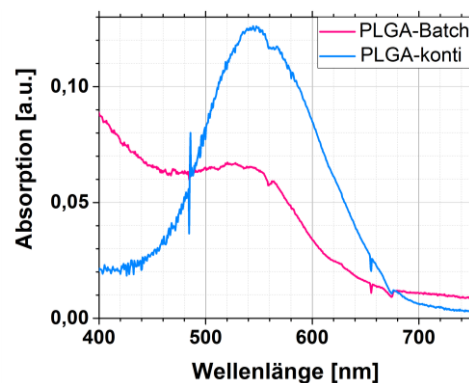


Abbildung 97: Vergleich der Absorptionsspektren (a) und der normierten Fluoreszenzspektren (b) der im Batch hergestellten (PLGA-Batch) bzw. der kontinuierlich prozessierten PLGA-Partikel (PLGA-konti) mit verkapseltem Nilrot.

Abbildung 98 zeigt einen Vergleich der Fluoreszenzspektren von PLGA-Batch und PLGA-konti, wobei als erstes auffällt, dass PLGA-konti eine wesentlich geringe Intensität aufweist. Zur Verdeutlichung der bathochromen Verschiebung bei PLGA-konti wurden die Spektren nach der Fluoreszenz normiert in Abbildung 98b aufgetragen.

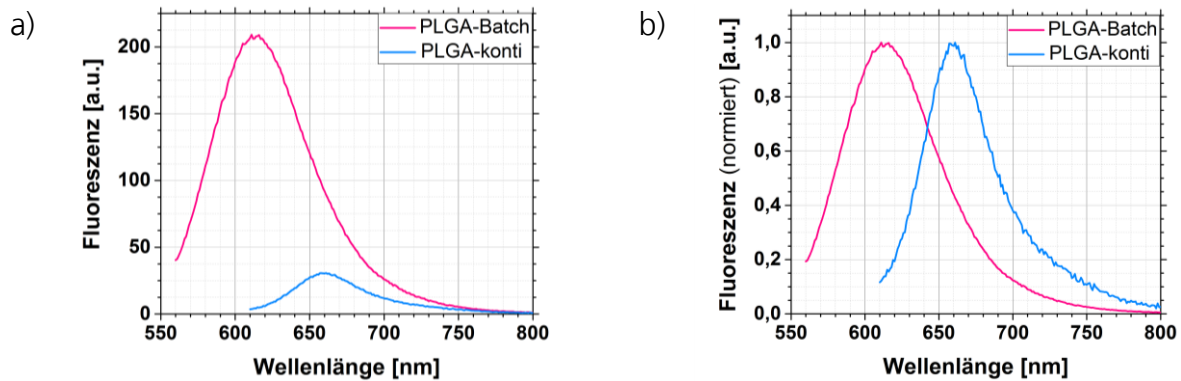


Abbildung 98: Vergleich der Fluoreszenzspektren (a) und der normierten Fluoreszenzspektren (b) der im Batch hergestellten (PLGA-Batch) bzw. der kontinuierlich prozessierten PLGA-Partikel (PLGA-konti) mit verkapseltem Nilrot.

Stellt man eine Verdünnungsreihe der beiden Proben her und misst deren Absorptionsspektren, ist bei PLGA-Batch lediglich eine Verringerung der Absorptionsintensität zu beobachten während die Form des Spektrums erhalten bleibt (siehe Abbildung 99a). Normiert man alle Spektren mit dem Verdünnungsfaktor, liegen alle gemessenen Spektren nahezu deckungsgleich übereinander (siehe Abbildung 99b).

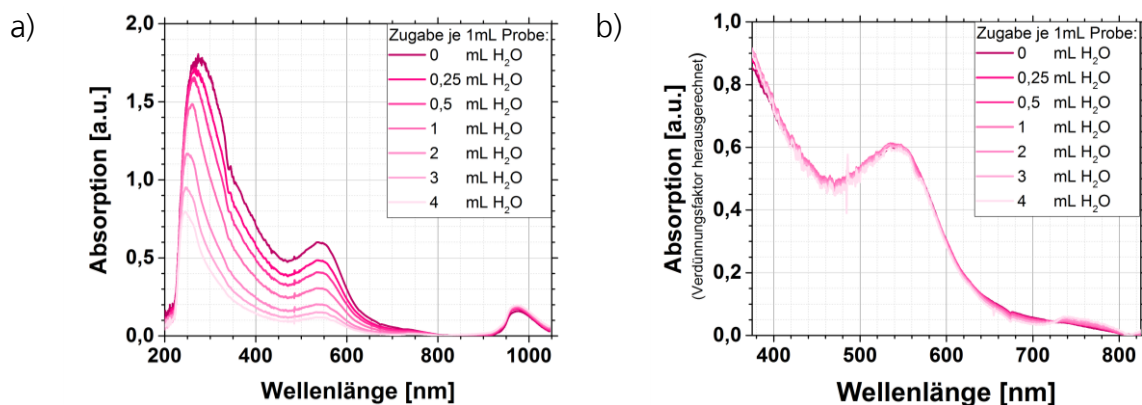


Abbildung 99: Absorptionsspektren des in PLGA verkapselten Nilrots bei Zugabe von Wasser (je 500 µl Probe); a) gemessene Signalstärke, b) Verdünnungsfaktor herausgerechnet.

Führt man die gleiche Verdünnungsreihe bei Probe PLGA-konti durch, fällt zum einen die Form des Spektrums auf mit zwei Maxima im Bereich zwischen 500 nm und 700 nm. Je verdünnter die Probe ist, desto mehr kommt es zu einer Glättung des Spektrums weg von den zwei Maxima hin zu einem Peak, welcher sich zudem in Richtung kürzerer Wellenlängen hin verschiebt. Außerdem verschwindet der Peak bei etwa 430 nm zunehmend mit steigender Verdünnung (siehe Abbildung 100a).

Durch eine Normierung über den Verdünnungsfaktor wird dieser Sachverhalt noch veranschaulicht (siehe Abbildung 100).

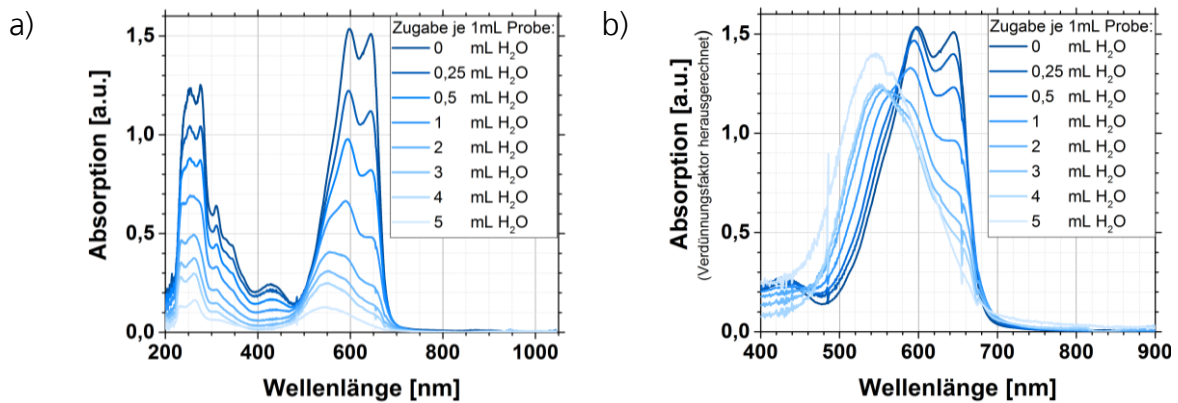


Abbildung 100: Absorptionsspektren des kontinuierlich verkapselten Nilrots in PLGA bei Zugabe von Wasser (je 500 μ l Probe); a) gemessene Signalstärke, b) Verdünnungsfaktor herausgerechnet.

Dieser Effekt beim Verdünnen ist auch mit bloßem Auge an den Proben zu erkennen; siehe Abbildung 101.

Während bei PLGA-Batch die Probe lediglich schwächer in der Farbintensität wird, wird zwar bei PLGA-konti ebenfalls die Farbintensität geringer, jedoch verändert sich die Farbigkeit von blau hin ins Violette.

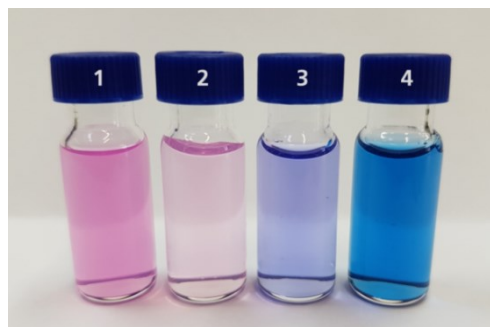


Abbildung 101: Im Batch-Verfahren verkapseltes Nilrot in PLGA (1) und verdünnt mit doppeltem Volumen an Wasser (2). Kontinuierlich verkapseltes Nilrot in PLGA (4) und verdünnt mit doppeltem Volumen an Wasser (3).

Misst man nun bei der vorgenommenen Verdünnungsreihe den pH-Wert der Proben PLGA-Batch und PLGA-konti sowie einer 3 wt% Lösung von SDS in Wasser, erhält man folgende Messwerte: siehe Tabelle 26.

Tabelle 26: Messung des pH-Wertes von einer Verdünnungsreihe von im Batch und kontinuierlich verkapseltem Nilrot in PLGA mit Stabilisierung der Partikel durch SDS sowie von einer 3 wt% wässrigen SDS Lösung.

Zugegebene Menge Wasser je 500 μ L Probe	pH-Wert		
	Batch Verfahren	Kontinuierliches Verfahren	3 wt% SDS in Wasser
0	4,24	2,53	8,73
125	4,26	2,57	8,58
250	4,30	2,58	8,42
500	4,33	2,63	8,28
1000	4,37	2,72	8,16
1500	4,40	2,79	7,81
2000	4,44	2,85	7,59
5000	4,62	3,03	7,54

Bei der Messung der pH-Werte zeigt sich, dass eine 3 wt% Lösung von SDS leicht im Basischen liegt. Die Hybridpartikel aus PLGA und Nilrot hingegen sind deutlich im sauren Bereich, wobei die Probe PLGA-konti mit pH-Werten zwischen 2,5 und 3 je nach Verdünnung trotz gleicher stöchiometrischer Zusammensetzung saurer ist als die Probe PLGA-Batch mit pH-Werten von 4,2 bis 4,6.

Um den Einfluss des pH-Wertes auf die unterschiedliche Farbe der Proben zu untersuchen, wurde bei der Probe PLGA-konti mit dem Verdünnungsfaktor von 1:10 mit Hilfe einer 1 N NaOH-Lösung der pH-Wert von pH 3,03 an den pH-Wert von PLGA-Batch (ebenfalls um denselben Faktor verdünnt) auf einen pH-Wert von 4,64 angeglichen; dazu wurden für 4 mL Partikeldispersion 200 μ L 1 N NaOH benötigt.

Anschließend wurden von allen drei Proben (PLGA-Batch, PLGA-konti, PLGA-konti mit angepasstem pH-Wert) Absorptions- und Fluoreszenzspektren gemessen, siehe Abbildung 102.

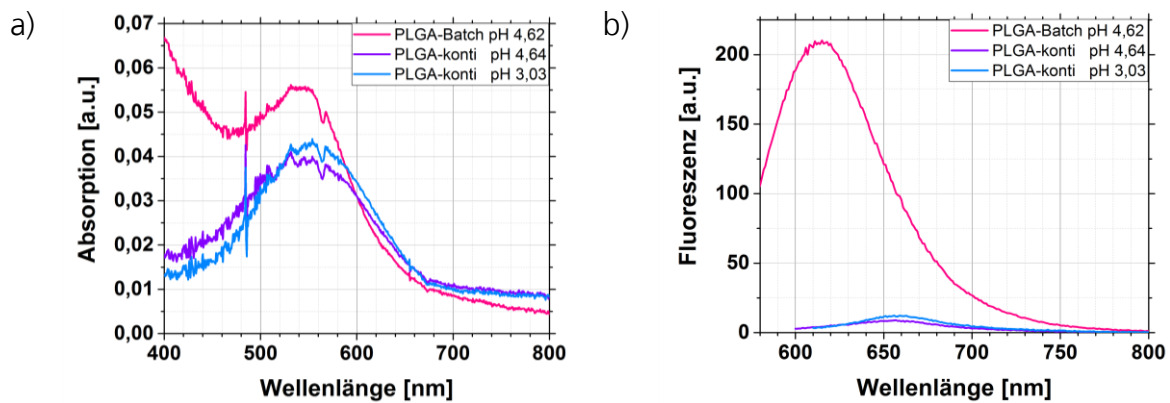


Abbildung 102: Normiertes Absorptionsspektrum (a) und Fluoreszenzspektrum (b) des im Batch und des kontinuierlich verkapselten Nilrots in PLGA bei Verdünnung mit Wasser um den Faktor 10 sowie die kontinuierlich hergestellte Probe bei gleicher Verdünnung und mit 1 N NaOH angepassten pH-Wert zu der im Batch hergestellten Probe.

Wie anhand der dargestellten Spektren in Abbildung 102 zu sehen ist, hat der pH-Wert in diesem Fall keinen Einfluss auf Absorption und Emission der Proben.

Damit sind Farbänderung, die Verschiebung der Spektren und das starke Abschwächen/Quenchen der Fluoreszenz durch Bildung von H-Aggregaten beim extrem schnellen Abdampfen des organischen Lösungsmittels bei der kontinuierlichen Herstellung mittels des Fallfilmmikroreaktors als Erklärung äußerst wahrscheinlich.

Um zu überprüfen, ob die Aggregatbildung und damit das Löschen der Fluoreszenz reversibel ist, wurde 1 mL der Probe PLGA-konti mit 1 mL Chloroform, welches bereits im Herstellungsprozess als gutes Lösungsmittel für das PLGA verwendet wurde, durch 3 minütiges *Vortexen* gut gemischt. Während des Durchmischens wechselte die Farbe bereits innerhalb der ersten 60 Sekunden von blau nach rosa.

Anschließend erfolgte analog zum Batch-Verfahren eine Homogenisierung der Probe durch Ultraschall. Das Abdampfen erfolgte ebenfalls diskontinuierlich, aber aufgrund der geringen Probenmenge nicht wie bei PLGA-Batch unter Rühren mit 500 rpm im Ölbad bei 40 °C über Nacht, sondern lediglich für 3 Stunden auf einer temperierbaren Schüttelplatte, aber ebenfalls bei 40 °C und 500 rpm.

Dynamische Lichtstreuemessungen am NANO-flex® bei einem Winkel von 180° zeigen, dass die kontinuierlich hergestellten Partikel etwas kleiner sind als die im Batch hergestellten.

Werden nun die kontinuierlich prozessierten Partikel durch Zugabe von Chloroform und unter Mischen wieder aufgelöst, um dann im Batch-Verfahren erneut mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik Partikel zu bilden (PLGA-konti-Batch), liegen diese im gleichen Größenbereich wie die beiden anderen Proben, sind jedoch sogar etwas größer als die Probe PLGA-Batch. Dies kann an dem hohen Anteil an Chloroform in der Emulsion liegen.

Tabelle 27: Vergleich der Partikelgrößen bei der Verkapselung von Nilrot in PLGA (Poly(D,L-lactid-co-glycolid)) im Batch (PLGA-Batch), kontinuierlich prozessiert (PLGA-konti) und nach Auflösen der kontinuierlich hergestellten Partikel und erneuter Partikelbildung im Batch (PLGA-konti-Batch), gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°.

Probe	Partikelgröße [nm]
PLGA-Batch	154 ± 59
PLGA-konti	143 ± 54
PLGA-konti-Batch	166 ± 65

Zur Überprüfung der Absorptions- und Fluoreszenzverhaltens von Nilrot nach kontinuierlicher Verkapselung in PLGA und der damit einhergehenden Bildung von nicht bzw. nur sehr schwach emittierenden Farbstoffaggregaten, Auflösung der Hybridpartikel und erneuter Partikelbildung im Batch-Verfahren wurden Adsorptions- und Fluoreszenzspektren aller drei Proben (PLGA-Batch, PLGA-konti und PLGA-konti-Batch) gemessen und miteinander verglichen (siehe Abbildung 103).

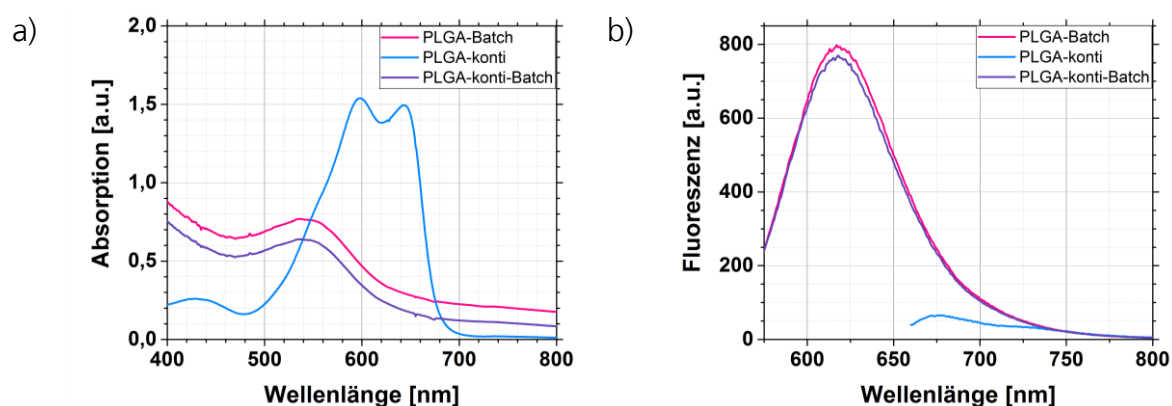


Abbildung 103: Normiertes Absorptionsspektrum (a) und Fluoreszenzspektrum (b) des im Batch (PLGA-Batch) und des kontinuierlich verkapselten Nilrots in PLGA (PLGA-konti) sowie die kontinuierlich hergestellte Probe nach Zugabe an Chloroform im Verhältnis 1:1 zum Probenvolumen, 3 minütigem Vortexen, Ultraschallbehandlung und Abdampfen des Chloroforms im Batch (PLGA-konti-Batch).

Abbildung 103 zeigt deutlich, dass sowohl die Absorption als auch die Fluoreszenz des Nilrots der Probe PLGA-konti-Batch sich deutlich von der Probe PLGA-konti durch eine bathochrome Verschiebung unterscheiden.

Die Spektren sind nahezu identisch mit denen von PLGA-Batch, wenn auch geringfügig schwächer in der Intensität. Damit kann eindeutig gezeigt werden, dass die Aggregatbildung und damit das Löschen der Fluoreszenz durch das schnelle kontinuierliche Abdampfen des Lösungsmittels erklärbar wird, da die Farbstoffmoleküle im apolaren, noch fluiden Partikel wechselwirken unter H-Aggregat-Bildung und nicht mit dem organischen Lösungsmittel an die Grenzfläche diffundieren („trapping“).

4.5.3.4 Theoretische Betrachtung der experimentellen Ergebnisse

Anhand der makroskopischen Beobachtungen (Farbe der Partikeldispersion) der experimentellen Ergebnisse konnte einerseits gezeigt werden, dass sich die solvatochromen Nilrot-Moleküle beim Abdampfen im Batch an der äußeren polaren Grenzregion der Partikel an der Grenzfläche zum stabilisierenden Tensid anordnen, wie es der Farbstoff laut Studien von Kurniasih et al.^[383] bevorzugt tut. Wird das organische Lösungsmittel hingegen sehr schnell im kontinuierlichen Fluss über den Fallfilmmikroreaktor STACK-1x-FFMR-LAB-V2 abgedampft, kommt es zu einem *Trapping* der Farbstoffmoleküle und der Bildung von H-Dimeren und –Aggregaten innerhalb des Polymerpartikels.

Alle bisher beschriebenen Beobachtungen und daraus abgeleiteten Schlussfolgerungen beruhen auf makroskopischen Beobachtungen. Im Folgenden wird nun der Einfluss des schnellen Abdampfens über den Fallfilmmikroreaktor auf mikroskopischer Ebene diskutiert.

Geht man von einem Partikeldurchmesser von etwa 150 nm aus, entspricht dies einem Radius von 75 nm ($\cong 7,5 \cdot 10^{-6}$ cm). Daraus ergibt sich für das Volumen des Partikels ein Wert von $1,77 \cdot 10^{-15}$ cm³; siehe Formel (88).

$$\begin{aligned} V &= \frac{4}{3} \pi r^3 \\ &= \frac{4}{3} \pi (7,5 \cdot 10^{-6} \text{ cm})^3 \\ &= 1,77 \cdot 10^{-15} \text{ cm}^3 \end{aligned} \tag{88}$$

V : Volumen

r : Radius

Geht man des Weiteren davon aus, dass die Dichte des Polymers ungefähr 1 g/cm³ beträgt, folgt somit ein Polymergehalt von $1,77 \cdot 10^{-15}$ g Polymer je Partikel.

Da das Polymer mit einer Konzentration von 3 wt% in Chloroform als Lösungsmittel gelöst wird, kann man daraus das Gewicht des Chloroforms in einem Tröpfchen vor dem Abdampfen bestimmen. Dies sind $5,72 \cdot 10^{-14}$ g je Tröpfchen.

Da Chloroform eine Dichte von $1,48 \text{ g/cm}^3$ hat, folgt daraus ein Volumen von $3,87 \cdot 10^{-14} \text{ cm}^3$. Die Löslichkeit von Chloroform in Wasser (8 g/L bei 25 °C) wurde bei den hier durchgeführten Berechnungen nicht berücksichtigt.

Durch Umstellen von Formel (88) nach $r = \sqrt[3]{\frac{3}{4\pi}V}$ errechnet sich daraus unter Vernachlässigung des gelösten Volumenanteils an Polymer ein Tröpfchenradius von $2,10 \cdot 10^{-5} \text{ cm}$, was 21 μm entspricht und damit einem Durchmesser von 42 μm .

Die Kanäle des verwendeten Fallfilmmikroreaktors haben eine Höhe von 400 μm . Wenn diese vollkommen gefüllt wären, betrüge die Kanalhöhe noch nicht einmal das 10fache des Tröpfchendurchmessers. Somit besteht eine hohe Wahrscheinlichkeit, dass es zu einer Grenzflächen-nahen Anordnung der Partikel an der Oberfläche des Flüssigkeitsfilms hin zum Stickstoffgasgegenstrom kommt. Dies begünstigt und beschleunigt den Verdampfungsvorgang deutlich. Durch das stetig größer werdende Verhältnis von Oberfläche zu Volumen kommt es zu einer weiteren Beschleunigung des Abdampfens des Lösungsmittels.

Mit Hilfe der Stokes-Einstein-Beziehung (siehe Formel (89)) und Kenntnis des Diffusionskoeffizient von Nilrot in Wasser, welcher $D_{NR,H_2O} = 4,27 \cdot 10^{-10} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$ beträgt, lässt sich der Radius von Nilrot in Wasser bei 20 °C berechnen.

$$\begin{aligned} r_{NR,H_2O} &= \frac{kT}{6\pi\eta_{H_2O}D_{NR,H_2O}} \\ &= 5,03 \cdot 10^{-10} \text{ m} \\ &\approx 0,5 \text{ nm} \end{aligned} \tag{89}$$

r_{NR,H_2O} : Radius von Nilrot in Wasser

$k = 1,38 \cdot 10^{-23} \frac{\text{J}}{\text{K}}$: Boltzmann – Konstante

$T = 20 \text{ °C} \triangleq 293,15 \text{ K}$: absolute Temperatur

$\eta_{H_2O} = 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$: dynamische Viskosität des Lösemittels

$D_{NR,H_2O} = 4,27 \cdot 10^{-10} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$: Diffusionskoeffizient von Nilrot in Wasser

Aus Berechnung der Stokes-Einstein-Beziehung (Formel (89)) ergibt sich für Nilrot in Wasser ein Radius von 0,5 nm, d.h. Nilrot besitzt einen Durchmesser von etwa 1 nm.

Analog kann der Durchmesser von Nilrot in Chloroform bestimmt werden. Dabei ist $D_{NR,CHCl_3} = 7 \cdot 10^{-10} \frac{m^2}{s}$ und $\eta_{CHCl_3} = 0,58 \cdot 10^{-3} Pa \cdot s$. Durch Einsetzen der Werte in Formel (89) ergibt sich ein Radius von $5,29 \cdot 10^{-10} m \approx 0,53 nm$ und damit ein Durchmesser von 1,06 nm für Nilrot in Chloroform.

Der Durchmesser von Chloroform wurde mit Hilfe bekannter Atomradien, Bindungslängen und –winkel ^[410–413] durch Christian Hofmann mit dem Programm Creo 3 (PTC, Needham, Massachusetts, USA) konstruiert (siehe Abbildung 104).

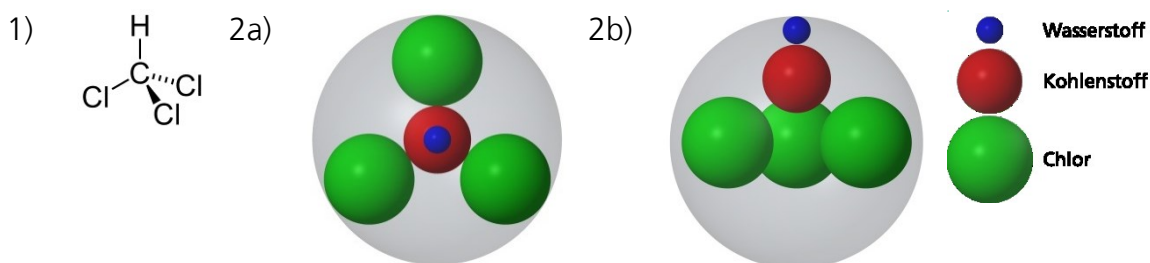


Abbildung 104: 1) Keilstrichformel von Chloroform. 2) Konstruktion des Chloroform-Moleküls anhand bekannter Atomradien (Wasserstoff: 31 pm^[410], Kohlenstoff: 76 pm^[411], Chlor: 102 pm^[412]), Bindungslängen (C-H: 108 pm, C-Cl: 177 pm)^[414] und Bindungswinkel (Cl-C-Cl: 110,3 °) mit Hilfe des Programms Creo 3 (PTC, Needham, Massachusetts, USA) durch Christian Hoffmann; Ansicht von oben (2a) und Ansicht von vorne (2b). Die teilweise transparente Kugel in 2a) und 2b) wurde verwendet um den Radius des Moleküls abzuschätzen.

Durch Einfügen einer teilweise transparenten Kugel, die das gesamte Molekül umschließt, wurde der Durchmesser von Chloroform auf 0,29 nm abgeschätzt.

Zusätzlich wurden von Steffen Treiling zur Bestimmung der Größen von Nilrot und Chloroform DFT-Berechnungen mit Hilfe des ORCA-Programmpakets (Version 4.0.1) durchgeführt.^[415] Für alle Berechnungen wurde dazu das B3LYP Funktional^[416–418] und die RIJCOSX Näherung verwendet.^[419,420] Es wurden sowohl für die Geometrieoptimierung als auch für das SCF enge Konvergenzkriterien verwendet (Keywords tightopt und tightscf des ORCA-Programmpakets).

Relativistische Effekte wurden mittels der "zeroth-order regular approximation" (ZORA) berücksichtigt,^[421] durch dieses findet automatisch eine relativistische Anpassung des Basissatzes statt.

Zur Berücksichtigung von Lösungsmittelleffekten wurde ein Referenz-Screening-Model (CPCM) verwendet, mit welchem Methanol als Lösungsmittel in allen Berechnungen modelliert wurde.^[422]

Geometrieoptimierungen wurden mit Ahlrichs' split-valence tripple- ξ Basissatz def2-TZVPP durchgeführt, welcher über Polarisationsfunktionen für alle nicht-Wasserstoffatome verfügt.^[423,424] Eine Dispersionskorrektur wurde durch das Becke-Johnson Programm (D3BJ) durchgeführt.^[425,426]

Nach Durchführung der eben beschriebenen Berechnung ergab sich für Nilrot ein gerundeter Durchmesser von 1,35 nm und für Chloroform von 0,29 nm.

Tabelle 28: Zusammenstellung der mit unterschiedlichen Methoden abgeschätzten und berechneten Durchmesser von Nilrot und Chloroform.

		Durchmesser [nm]	
		Chloroform	Nilrot
Abschätzung über Stokes-Einstein-Beziehung	in H ₂ O	-	1,00 nm
	In CHCl ₃	-	1,06 nm
Konstruktion mit Creo 3 und graphische Abschätzung		0,29 nm	-
Berechnung mit ORCA		0,29 nm	1,35 nm

Darüber hinaus wurden zur Veranschaulichung noch 3D-Modelle der beiden Moleküle (Nilrot und Chloroform) von Steffen Treiling simuliert (siehe Abbildung 105).

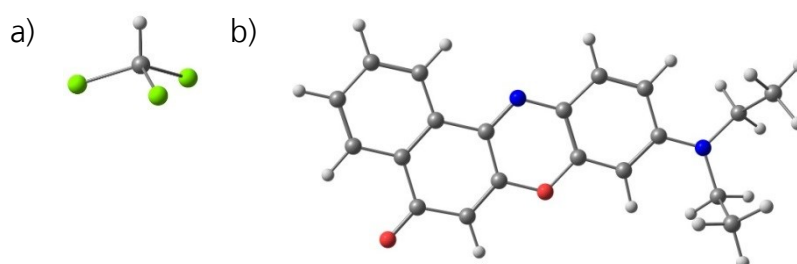


Abbildung 105: Mit Chemcraft durch Steffen Treiling erstellte 3D-Modelle der Moleküle a) Chloroform und b) Nilrot. Die ● sollen dabei Kohlenstoffatomen entsprechen, die ○ Wasserstoffatomen, die ● Sauerstoffatomen, die ● Stickstoffatomen und die ● Chloratomen.

Bei bekanntem Radius kann durch Umstellung der Stokes-Einstein-Beziehung (Formel (89)) der Diffusionskoeffizient berechnet werden (siehe Formel (90)).

$$D_{CHCl_3} = \frac{kT}{6\pi\eta_{CHCl_3}r_{CHCl_3}} \quad (90)$$

$$\approx 2,643 \cdot 10^{-9} \frac{m^2}{s}$$

$$D_{CHCl_3} = \text{Diffusionskoeffizient von Chloroform} \left[\frac{m^2}{s} \right]$$

$$k = 1,38 \cdot 10^{-23} \frac{J}{K} : \text{Boltzmann – Konstante}$$

$$T = 20 \text{ } ^\circ\text{C} \triangleq 293,15 \text{ K} : \text{absolute Temperatur}$$

$$\eta_{CHCl_3} = 0,56 \cdot 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s} : \text{dynamische Viskosität des Lösemittels}^{[427]}$$

$$r_{CHCl_3} = 0,145 \text{ nm} = 1,45 \cdot 10^{-10} \text{ m} : \text{Radius von Chloroform}$$

Somit ergibt sich für Chloroform ein Diffusionskoeffizient von $2,643 \cdot 10^{-9} \frac{m^2}{s}$. Verglichen mit dem Diffusionskoeffizienten von Nilrot in Chloroform, der $D_{NR,CHCl_3} = 7 \cdot 10^{-10} \frac{m^2}{s}$ beträgt, sind die Chloroform Moleküle also um den Faktor 3,8 schneller als die Nilrot Moleküle.

Berücksichtigt man nun, dass die Mikrokanäle des verwendeten Fallfilmmikroreaktors ein Innenvolumen von 0,612 mL haben, bedeutet dies, dass bei einer Gesamtflussrate von 4,10 mL/min die Verweildauer lediglich 0,15 Sekunden beträgt. Es konnte experimentell gezeigt werden, dass diese Zeit ausreicht, um das Chloroform vollständig aus der Partikeldispersion abzdampfen.

Dies zeigt, dass noch weitere Aspekte berücksichtigt werden müssen, die dazu führen, dass bei dieser extrem kurzen Verdampfzeit die Nilrot Moleküle nicht ausreichend Zeit haben, sich aus dem Inneren des Tröpfchens an die Oberfläche des entstehenden Partikels zu bewegen.

Der angelegte Gegenstrom des Stickstoffgases begünstigt das Gleichgewicht des Verdampfungsprozesses zu Gunsten des Chloroformaustritts. Damit einher kommt es mit fortschreitendem Abdampfen des Polymers zu einer Verkleinerung des Tropfens und damit in Relation zu einem immer größer werdenden Oberfläche-zu-Volumenverhältnisses, das wiederum das Abdampfen beschleunigt.

Zusätzlich erhöht sich somit die Viskosität innerhalb des Tröpfchens kontinuierlich und die Diffusion für das sperrige Farbstoffmolekül wird stetig erschwert.

Eine experimentelle Möglichkeit, die unterschiedliche Verteilung der Farbstoffmoleküle innerhalb der Polymerpartikel je nach Art / Schnelligkeit des Abdampfvorgangs nachzuweisen, wäre deuteriertes Nilrot zu verwenden und Neutronenstreuung zu messen. Da die Nanopartikel einen Durchmesser von etwa 150 nm haben, sollten sie groß genug sein um einen Unterschied in der Verteilung zu detektieren.

4.5.3.5 Berechnung der Anzahl an Farbstoffmolekülen pro Polymerpartikel

Da sowohl die Größe der Polymerpartikel als auch die Konzentration des Farbstoffs pro Mengeneinheit Polymer sowie die Molmasse von Nilrot bekannt sind, kann mit Hilfe einiger Annahmen und Abschätzungen, ein Wert für die Anzahl der Farbstoffmoleküle pro Polymerpartikel berechnet werden.

Wie aus der Versuchsbeschreibung (Kapitel 4.5.3.2) hervorgeht, beträgt die Konzentration an Farbstoff 1 g je Kilogramm Polymer. Wird die Dichte des Polymers mit 1 g/mL angenommen, kann die Masse eines Polymerpartikels bestimmt werden.

Wird in Übereinstimmung mit den Daten aus den Experimenten (Kapitel 4.5.3.3) von einem Partikeldurchmesser von 150 nm ausgegangen – dies entspricht einem Radius von 75 nm – kann mit Formel (91) (analog Formel (88)) das Volumen des Partikels berechnet werden.

$$\begin{aligned} V &= \frac{4}{3}\pi r^3 \\ &= \frac{4}{3}\pi(7,5 \cdot 10^{-6} \text{ cm})^3 \\ &= 1,77 \cdot 10^{-15} \text{ cm}^3 \end{aligned} \tag{91}$$

V : *Volumen*

r : *Radius*

Das Volumen eines Polymerpartikels beträgt somit etwa $1,77 \cdot 10^{-15} \text{ cm}^3$. Bei einer Konzentration von 1 g Farbstoff je Kilogramm Polymer und einer angenommenen Dichte von 1 g/mL für das Polymer, so resultiert daraus eine Menge von $1,44 \cdot 10^{-18} \text{ g}$ Nilrot je Partikel.

Bei einer bekannten Molmasse von 318,369 g/mol für Nilrot kann nun mit Hilfe von Formel (92) die Stoffmenge des Farbstoffes je Nanopartikel errechnet werden.

$$n = \frac{m}{M} \quad (92)$$

$$= 5,551 \cdot 10^{-21} \text{ mol}$$

n : Stoffmenge

$m = 1,77 \cdot 10^{-18} \text{ g}$: Masse an Nilrot pro Partikel

$M = 318,369 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$: molare Masse

Somit enthält jeder Polymerpartikel im Durchschnitt $4,523 \cdot 10^{-21}$ mol Nilrot. Ein Mol entspricht $6,022 \cdot 10^{23}$ Teilchen (= Avogadro-Konstante). Daraus folgt, dass sich im Mittel in jedem Polymerpartikel 92 Farbstoffmoleküle befinden.

Nun kann mit Formel (93) die Oberfläche eines Partikels mit einem Radius von 75 nm berechnet werden.

$$A_0 = 4\pi r^2 \quad (93)$$

$$= 4\pi (75 \text{ nm})^2$$

$$= 70.686 \text{ nm}^2$$

A_0 : Oberfläche einer Kugel

Teilt man nun dieses Ergebnis von 70.686 nm² durch die mittlere Anzahl von 92 Farbstoffmolekülen pro Partikel, ergibt dies, dass bei einer gleichmäßigen Verteilung auf der Oberfläche des Partikels jedes Farbstoffmolekül etwa 770 nm² Platz hätte – dies entspricht einer Kantenlänge der Fläche von knapp 28 nm – bei einer abgeschätzten/simulierten Eigengröße des Farbstoffes von etwa 1 nm (vergleiche Kapitel 4.5.3.4).

4.5.3.6 Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Kapitel wurde gezeigt, dass mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungs-technik Nilrot erfolgreich sowohl in Polystyrol als auch in PLGA (Poly(D,L-lactid-co-glycolid)) in Partikeln mit einem Durchmesser von etwa 150 nm verkapselt werden konnte. Anhand des solvatochromen Effekts des Farbstoffs konnte darüber hinaus demonstriert werden, dass die Art der Prozessierung – im Batch oder kontinuierlich – und je nach Art des Systems, einen enormen Einfluss auf die Eigenschaften der Verkapselung haben kann.

Das extrem schnelle Verdampfen des organischen Lösungsmittels mit Hilfe des Fallfilmmikroreaktors führt dazu, dass die Nilrot-Moleküle nicht ausreichend Zeit haben, sich in der äußeren polaren Grenzregion der Partikel an der Grenzfläche zum stabilisierenden Tensid anzuordnen, wie es der Farbstoff laut Studien von Kurniasih et al.^[383] bevorzugt, sondern innerhalb des Polymerpartikels eingeschlossen wurde.

Dadurch kommt es vermutlich zur Bildung von H-Dimeren und H-Aggregaten in Verbindung mit einer bathochromen Verschiebung und einem Quenchen der Fluoreszenz.

Über ein Auflösen der kontinuierlich prozessierten Partikel mit Chloroform und anschließender Partikelneubildung im Batch-Verfahren konnte die Reversibilität der Fluoreszenzlöschung gezeigt werden.

Hieraus ergeben sich vielversprechende, potentielle Anwendungsmöglichkeiten für Partikel mit kontinuierlich verkapseltem Nilrot. Gerade in der Biomedizin z.B. für Zellaufnahmestudien bei Wirkstoffverabreichung ist eine Fluoreszenzmarkierung zur Auswertung unabdingbar, da dies das Hauptinstrument ist, um die Aufnahmewege nachzuverfolgen, und herauszufinden, wohin der Wirkstoff transportiert wird.

Werden allerdings Trägersysteme zur Wirkstofffreisetzung genutzt, kann eigentlich nur verfolgt werden, wo sich das Trägermaterial befindet. Das große Potential der im Rahmen dieses Unterkapitels kontinuierlich hergestellten Partikel liegt darin, dass solange die Partikel intakt sind, diese auch nicht fluoreszieren. Erst beim Auflösen der Partikel steigt die Quantenausbeute des Farbstoffs über die Detektionsgrenze. Somit könnte die Freisetzung von Nilrot aus solchen Partikeln anhand der auftretenden Fluoreszenz direkt verfolgt werden.

Wegen der Vielzahl an erforderlichen, weiterführenden Versuchen zur Freisetzung, wie etwa der sauren oder enzymatischen Spaltung der Polymermatrix, dem Verhalten des Gesamtsystems in biologischer Umgebung etc., wurde auf weitere Experimente dazu im Rahmen dieser Arbeit verzichtet.

Darüber hinaus zeigen die Ergebnisse der Verkapselung von Nilrot in PLGA, dass die Art der Formulierung einen Einfluss auf die Verteilung der zu verkapselnden Substanz hat. Dies kann wie in diesem Fall dazu führen, dass sich der Farbstoff bei der Herstellung im Batch^[238] an der Grenzfläche des Partikels hin zum Medium orientiert oder aber bei der kontinuierlichen Prozessführung auf Grund des extrem schnellen Abdampfvorgangs innerhalb der Polymermatrix reversibel fixiert wird.

4.6 Partikel-Aufnahme magnetischer PLGA-Nanopartikeln durch die humane Glioblastomzelllinie U-251 MG

Im abschließenden Abschnitt des Kapitels „Ergebnisse und Diskussion“ wird die Aufnahme von magnetischen, fluoreszenzmarkierten PLGA-Nanopartikeln (Poly(Lactid-co-Glycolid)) in Glioblastomzellen der Zelllinie U-251 MG in einem Magnetfeld untersucht. Neben der Familie der Gliazellen zählen Glioblastomzellen mit zu den wichtigsten Zielzellen für Nanopartikel. Zum Vergleich wurde die Partikelaufnahme ohne Magnetfeld sowie von PLGA-Partikeln ohne verkapseltem Magnetit in An- und Abwesenheit eines Magnetfeldes beobachtet.

Im Batch-Verfahren wurden mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungsmethode superparamagnetische Eisenoxid-Partikel zusammen mit dem Fluoreszenzfarbstoff PMI (N-(2,6-diisopropylphenyl)-perylene-3,4-dicarbonacidimide) in PLGA-Nanopartikeln verkapselt. Alle weiteren Arbeitsschritte wurden von Helen Onyema durchgeführt.

Es erfolgte eine Quantifizierung der Zellaufnahme mit und ohne Magnetfeld in Glioblastomzellen der Zelllinie U-251 MG sowie ein Viabilitätstest der Zellen mit Hilfe der fluoreszenzbasierten Durchflusszytometrie. Die Lokalisation der aufgenommenen Nanopartikel wurde mit konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM) untersucht.

Um neben dem Einfluss des Magnetfelds auch eine Aussage über die Wechselwirkung von mit Magnetit beladenen Partikeln im Gegensatz zu Partikeln ohne Magnetit auf die Zellaufnahme bzw. die Wechselwirkung der Partikel mit den Proteinen des Blutplasmas treffen zu können, erfolgte eine massenspektrometrische Analyse der Proteinkorona nach Inkubation in Blutplasma.

4.6.1 Aufbau und Funktion des Blut-Hirn-Schranke (BHS)

Noch immer stellt die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke (BHS) bei der Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen (z.B. Demenz), von Hirntraumata oder –tumoren eine große Herausforderung dar.^[428]

Nanopartikel stellen ein vielversprechendes System als Wirkstoffträger dar, um die Barriere der BHS zu passieren und dann an den Zielorten im Gehirn den transportierten Wirkstoff freizusetzen.^[428]

Die BHS bildet einen homöostatischen Schutzmechanismus vor im Blut zirkulierenden Giftstoffen und Krankheitserregern.^[429–431]

Dringen Pathogene, Toxine oder Immunzellen ins Hirn ein, kann dies zu Entzündungen oder sogar bis hin zum Zelltod im Hirn führen und dieses maßgeblich in seiner Funktion stören.^[432,433] Auf Grund dessen ist eine intakte BHS für die Funktion des Gehirns absolut essentiell.

Der Aufbau der BHS ist schematisch in Abbildung 106 dargestellt und beschrieben.

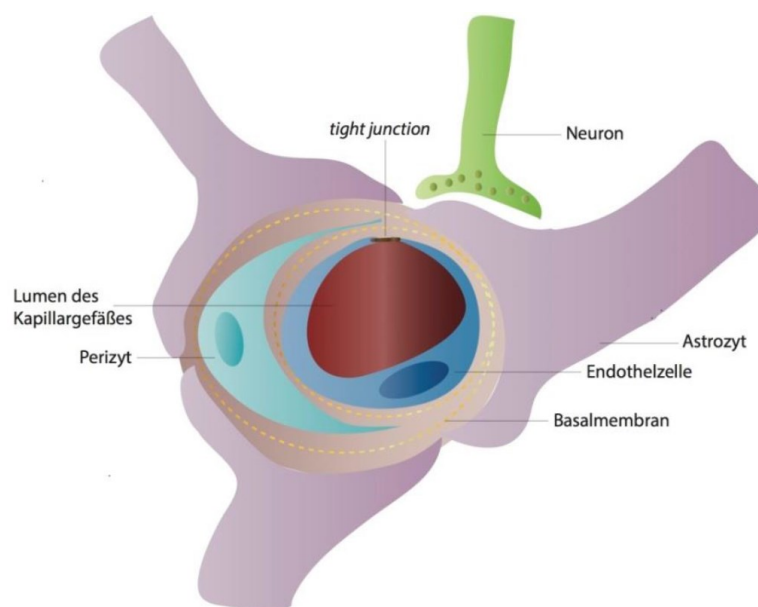


Abbildung 106: Schematische Darstellung des zellulären Aufbaus der Blut-Hirn-Schranke^[428] (modifiziert von Helen Onyema^[428] nach ^[431]). Die Blut-Hirn-Schranke besteht hauptsächlich aus Kapillarendothelzellen, welche von einer Basalmembran umgeben sind. Die BHS ist über die Endfüßchen der Astrozyten mit Neuronen verbunden. Die Astrozyten fördern über die Ausschüttung spezifischer Wachstumsfaktoren die Bildung sowie den Erhalt von *tight junctions* (TJ). Perizyten generieren durch Kontraktion den Blutfluss der Hirnkapillaren, sind aber nicht essentiell für die Bildung der BHS.^[428]

Die BHS besteht aus Kapillarenendothelzellen (EZ) der zerebralen Blutgefäße mit einer geringen endozytotischen Aktivität. Die EZ sind durch *tight junctions* (TJ) und *adherent junctions* (AJ) eng miteinander verbunden. Dadurch entsteht eine Art Versiegelung, welche die parazelluläre Diffusion einschränkt und so einen Stoffaustausch minimiert.^[434] Dies hat zur Folge, dass die Versorgung des Hirns mit essentiellen Nährstoffen nur über spezifische Transportsysteme, Pumpen oder Rezeptoren erfolgen kann.^[430,431,435–437]

Zur Versorgung dieser Transportsysteme besitzen die EZ eine große Anzahl an Mitochondrien, die die notwendigen hohen Energiemengen für den aktiven Abtransport von Abfallstoffen sowie den Erhalt des Ionengradientens bereitstellen.^[433,438–440]

Eine intakte BHS hat einen transendothelialen elektrischen Widerstand (TEER) von bis zu 8.000 Ω/cm^2 , eine Undichte jedoch nur von 100-200 Ω/cm^2 .^[441,442]

Die Hirnkapillaren, in denen sich die EZ befinden, werden von einer 100 nm dicken Basalmembran umgeben.^[428] Der Blutfluss innerhalb dieser Kapillaren wird durch Kontraktion von Perizyten, die sich auf der äußeren Achse der zerebralen Kapillaren befinden, kontrolliert und geregelt.^[428,443–448]

Durch das Strömen des Blutes entsteht Scherstress an den EZ.^[437] Dieser beträgt in Venen lediglich 1-4 dyn/cm^2 , in Arterien hingegen 4-30 dyn/cm^2 ^[449,450] und gilt als Grund für die Bildung von Zell-Zell-Verbindungen. Ein erhöhter Scherstress führt zu einer größeren Anzahl an TJ.^[451–454] Bei einem Verlust von Perizyten kann aufgrund von lokal verringertem Blutfluss und damit geringerem Scherstress die BHS zusammenbrechen.^[455,456]

Die Hirnkapillaren werden - abgesehen von den Perizyten - von den Endfüßen der Astrozyten umschlossen.^[428] Dabei kann eine Astrozyte gleichzeitig mehrere Kapillaren umgeben.^[457] Astrozyten sind sternförmig verzweigte Zellen, die zu den Gliazellen zählen. „Gliazelle“ stellt einen Sammelbegriff für Zellen im Nervengewebe dar, die sich strukturell und funktionell von den Nervenzellen (Neuronen) abgrenzen lassen.^[458] Sie sind nicht nur am Stofftransport, dem Flüssigkeitsaustausch sowie der Aufrechterhaltung der Homöostase im Gehirn beteiligt, sondern bilden auch gleichzeitig ein Stützgerüst für Nervenzellen und isolieren diese durch ihre Umhüllung.^[458]

Neben der Induktion und Aufrechterhaltung der BHS zählen zu den weiteren Funktionen der Astrozyten die Flüssigkeitsregulation und damit direkt verbunden die Regulation des extrazellulären pH-Haushalts des Gehirns sowie die Versorgung der Neuronen über die Kontakte zu den Blutgefäßen.

Außerdem sind sie ein wichtiger Bestandteil des 2012 entdeckten Mikrokreislaufs dem sogenannten glymphatischen Systems ^[459,460] – zur Abfallentsorgung aus dem Bereich des Gehirns heraus.^[461]

Es gibt eine Vielzahl von Transportwegen über die BHS, welche schematisch in Abbildung 107 zusammengefasst sind.

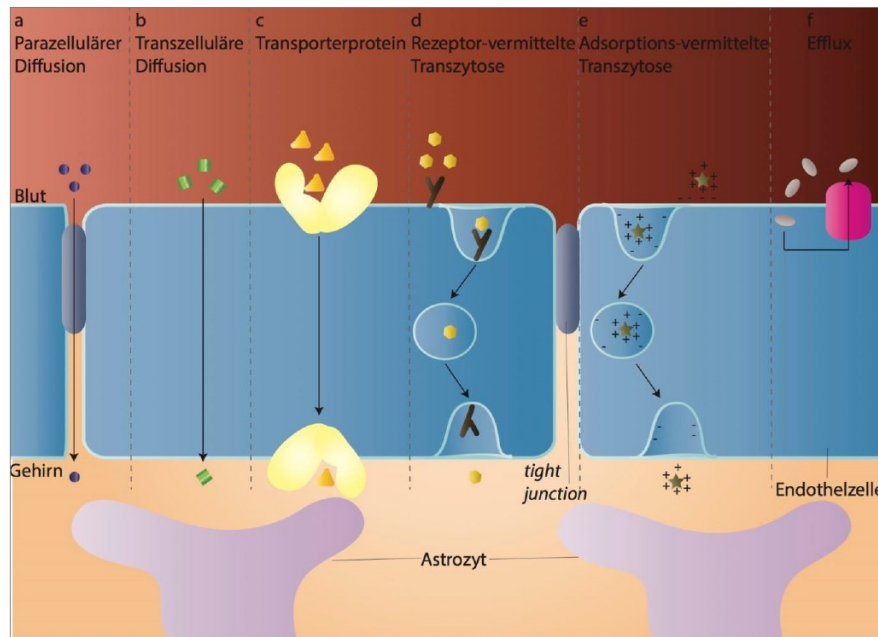


Abbildung 107: Transportwege an der Blut-Hirn-Schranke (modifiziert von Helen Onyema^[428] nach ^[431]).

a) Passive Diffusion wasserlöslicher Stoffe parazellulär über *tight junctions*. b) Transzelluläre Diffusion lipophiler Stoffe. c) Transportproteine für große Moleküle (z.B. Glukose oder Aminosäuren). d) Spezifische Rezeptor-vermittelte Transzytose für Proteine (z.B. Insulin oder Transferrin). e) Adsorptions-vermittelte Transzytose basierend auf elektrostatischer Interaktion zwischen einem positiv geladenem Molekül (z.B. Albumin) und der negativ geladenen Plasmamembran. f) Aktiver Efflux (aktive Transporter/ Pumpen wie z.B. p-gp) zur Entfernung unerwünschter Moleküle.

Über passive Diffusion können kleine wasserlösliche Moleküle, meist mit einem Molekulargewicht unter 500 kDa und weniger als fünf Protonendonatoren,^[462,463] die TJ überwinden und gelangen so ins Gehirn.^[464] Kleinen lipophilen Molekülen ist es möglich durch passive Diffusion die Zellmembran der EZ zu passieren.^[430,437,464]

Ein aktiver Transport über Transportproteine, Rezeptor- oder Adsorptions-vermittelte Transportwege sind für kleine polare (z.B. Glucose, Aminosäuren) oder große Moleküle (z.B. Proteine, Peptide) notwendig um die BHS zu überwinden.^[430,437]

Eine chemische Modifikation (z.B. Konjugation mit einem spezifischen Liganden für einen Rezeptor der BHS) oder eine Verkapselung in Liposomen oder Nanopartikel ist für einen gezielten und effizienten Wirkstofftransport über die BHS zur Behandlung von Erkrankungen des zentralen Nervensystems (ZNS) notwendig.^[428]

Bei einer Verkapselung des Wirkstoffs werden, wie in Abbildung 108 dargestellt, hohe Anforderungen an das Trägersystem gestellt. Dazu zählt vor allem, dass das verwendete Material nicht toxisch sein darf, es muss mit den Rezeptoren der BHS interagieren können und eine definierte Struktur im Hinblick auf Größe, Form und Oberflächeneigenschaften besitzen.^[120,464]

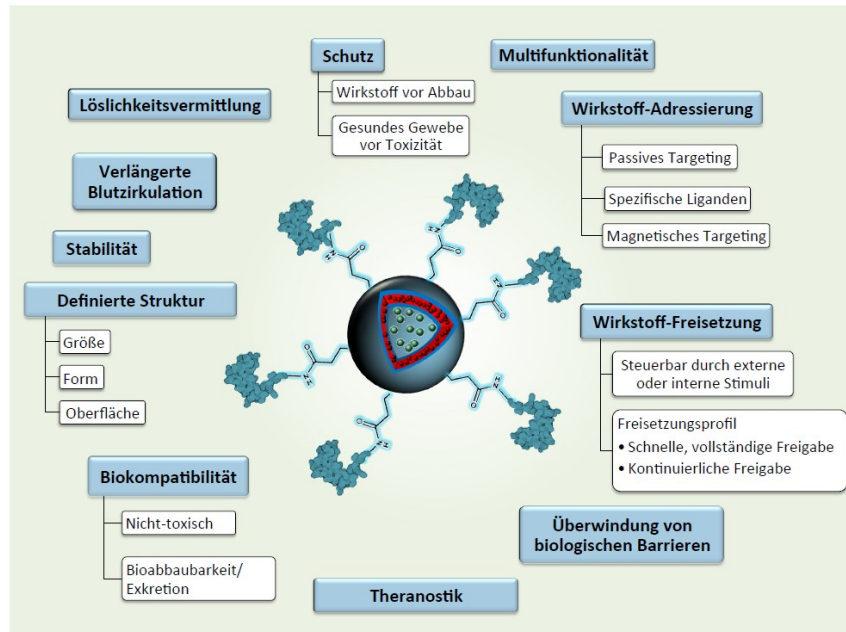


Abbildung 108: Rationales Design eines nanopartikulären Wirkstoffträgersystems.^[120]

Darüber hinaus gibt es auch noch alternative Möglichkeiten für den Wirkstofftransport über die BHS.^[428] Durch Erhöhung der Lipophilie kann die Aufnahme deutlich gesteigert werden;^[465] so wird Heroin (Diacetyl-Morphin) im Vergleich zu Morphin 25-fach stärker aufgenommen.^[466] Auch kann eine kurzzeitige, reversible Öffnung der BHS zur Wirkstoffaufnahme über verschiedene Stimuli erzielt werden. Möglich ist dies entweder biologisch, chemisch, mittels hochfrequentem, fokussiertem Ultraschalls oder aber mit elektrischen Feldern.^[467–469]

Eine reversible Öffnung der TJ kann beispielsweise durch Injektion einer hyperosmotischen Zuckerlösung (z.B. Arabinose) in die Halsschlagader und dadurch induziertem Ausströmen des Wassers aus den Kapillaren und infolgedessen einem Schrumpfen der EZ erzielt werden.^[470,471] Ein Öffnen der TJ, und damit verbunden eine deutliche Erhöhung der Durchlässigkeit der BHS, kann allerdings auch mit RMP-7 (Cereport, ein Bradykanin-Rezeptoragonist) hervorgerufen werden.^[472–474]

Eine große Gefahr bei der induzierten Öffnung der BHS ist, dass nicht nur die gewünschten Wirkstoffe die Barriere passieren und ins Gehirn gelangen, sondern auch gleichzeitig unerwünschte Krankheitserreger.^[428] Dies kann mit der Nutzung vesikulärer Transportwege durch Nanopartikeln, Liposomen, Dendrimere oder Cyclodextrine verhindert werden.^[475,476]

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden für die Zellversuche, Zellen der Glioblastomzelllinie U-251 MG für Partikelaufnahmeversuche, im Hinblick auf einen Wirkstofftransport über die BHS hinweg, verwendet.

Beim *Glioblastoma multiforma* handelt es sich um den häufigsten, bösartigen Tumor des ZNS und ist die zweithäufigste Krebsform, die zum Tod bei unter 35-jährigen führt.^[477] Es weist feingewebliche Ähnlichkeiten mit den Gliazellen des Gehirns auf ^[478] und zeichnet sich durch schnelles Wachstum, starke Ausbreitung und Angiogenese aus.^[479] Im Gegensatz zu anderen Krebsformen greifen diese Zellen willkürlich umliegendes gesundes Gewebe an, sodass eine komplette operative Entfernung erschwert ist.^[480] Die mittlere Überlebenszeit liegt bei wenigen Monaten ohne Behandlung und rund 15 Monaten bei aktuell gängigen Therapiemethoden, welche aus der operativen Reduktion der Tumormasse, Bestrahlung, Chemotherapie und Immuntherapie bestehen.^[478,479,481]

Aufgrund ihrer großen Vielfalt und ihrer Größenkompatibilität zu biologischen Systemen sind Nanopartikel für biomedizinische Anwendungen von höchstem Interesse.^[482] Die geringe Größe zusammen mit der Modifizierbarkeit ihrer Oberfläche zeichnen Nanopartikel als Wirkstoffträger zur gezielten Freisetzung (*target drug delivery*) und zur Überwindung von Barrieren wie Zellmembranen und der BHS aus.^[255,483–485] Darüber hinaus können sie nicht nur zum Transport von Wirkstoffen genutzt, sondern auch zur Visualisierung *in vitro* und *in vivo* eingesetzt werden.^[23,482,486,487] Dafür ist es notwendig, dass die Partikel sowohl wasserlöslich und biologisch abbaubar als auch nicht toxisch (vergleiche Abbildung 108) sind.^[120,488,489]

Gängige Polymere für biologisch abbaubare Nanopartikel sind neben den FDA zugelassenen Polymeren Poly(lactid) (PLA) und Poly(D,L-lactid-co-glycolid) (PLGA) auch Poly(butylcyanoacrylat) (PBCA). Der Grund dafür ist, dass alle drei Materialien sowohl stabil in der Blutbahn sind ^[490–492] als auch relativ schnell durch enzymatische Spaltung der Esterbindung der Alkylgruppen abgebaut werden können.^[493–495]

Die Aufnahme von Nanopartikeln in Zellen kann über verschiedene passive oder aktive Transportmechanismen erfolgen. Meist findet die Partikelaufnahme allerdings über Rezeptor- oder Adsorptions-vermittelte Endozytose statt. Bei einer erfolgreichen vesikulären Partikelaufnahme ins Cytoplasma, sinkt der pH-Wert innerhalb der Endosomen oder Lysosomen in den sauren Bereich.^[428]

Darüber werden lysosomale Enzyme (z.B. Phosphatase oder Lipasen) aktiviert, welche zu einem Abbau der Polymermatrix führen, so dass deren Inhalt dann ins Zellinnere abgegeben werden kann.^[490]

Wie bereits in Kapitel 4.5.2 "Hybridpartikel aus Polystyrol und Magnetit" beschrieben wurde, haben superparamagnetische Eisenoxid-Partikel ein breites Anwendungsspektrum im biomedizinischen Bereich.

Sie werden zur Visualisierung in bildgebenden Verfahren durch Zellmarkierung *in vitro* oder als Kontrastmittel in der Kernspintomographie genutzt, aber finden auch Einsatz zur Aufreinigung und Isolierung von RNA und DNA, zur Immobilisierung von Nukleinsäuren, Proteinen und Enzymen, aber auch für den Stofftransport *in vivo* oder zur Hyperthermiebehandlung.^[146,350–359,428,496,497]

Eine gängige Methode zur Stabilisierung von Nanopartikeln in wässrigem Medium ist über die Oberflächenladung. Dadurch sind die Eigenschaften der Partikel stark von der Zusammensetzung des umgebenden Mediums abhängig.^[428] Vor allem bei der Überführung von Partikeln in ein biologisches System, z.B. Blut oder Plasma, spielt die Wechselwirkung der Partikeloberfläche mit den darin vorkommenden, geladenen Makromolekülen eine entscheidende Rolle, da dies im schlechtesten Fall zum Agglomerieren der Einzelpartikel führen kann.^[498,499]

Werden Nanopartikel in Blut appliziert, interagieren sie dort mit den Serumproteinen und bilden eine individuelle, charakteristische Proteinkorona aus. Diese besteht aus unterschiedlichen, adsorbierten Proteinen bei denen vor allem Albumin und Apolipoproteine einen Hauptbestandteil ausmachen. Über die jeweilige Zusammensetzung wird die biologische Identität der Partikel definiert.^[498,500,501]

Die Größe, das Material und die Oberflächeneigenschaften von Nanopartikeln beeinflussen nicht nur die entstehende Proteinkorona, sondern damit direkt auch ihre Biokompatibilität und Toxizität.^[502–504]

Ein häufiges Problem konventioneller Wirkstoffe, welche aus relativ kleinen Molekülen bestehen, besteht in ihrer kurzen Halbwertszeit im Blutkreislauf bevor sie aufgrund ihrer geringen Größe in den Nierenkörperchen vom Blut abgetrennt und über den Harn ausgeschieden werden (= renale Clearance).

Diese Moleküle sind so klein, dass sie sich während der begrenzten Verweildauer relativ gleichmäßig im ganzen Körper verteilen. Dabei können sie auch in gesundes Gewebe diffundieren und dort Nebenwirkungen hervorrufen. Dies führt dazu, dass nur relativ kleine Wirkstoffmengen am Zielort ankommen.^[428]

Das ist der Grund, wieso Nanopartikel als Wirkstofftransporter von großem Interesse für die Medizin sind. Durch Verkapselung eines Wirkstoffs in eine Polymermatrix kann die Halbwertszeit in der Blutbahn deutlich verlängert werden. Somit wird gleichzeitig die benötigte Dosis verringert als auch ein Erreichen und Anreichern am Zielort gefördert. Durch die systematische Verbreitung eines Arzneistoffes im Körper wird dieser nicht nur ausschließlich an den gewünschten Zielort transportiert, sondern gelangt auch in gesundes Gewebe. Bei einem intaktem Lymphsystem wird der Arzneistoff normalerweise auch wieder abtransportiert.^[505]

Durch eine spezifische Adressierung der Nanopartikel über aktives *Targeting* krankheitsspezifischer Rezeptoren kann eine Rezeptor-vermittelte Endozytose ins Zielgewebe induziert werden. So kann eine unspezifische Partikelaufnahme in gesundes Gewebe reduziert und systemische Nebenwirkungen minimiert werden.^[506]

Auch ist es möglich, durch die Verkapselung die Löslichkeit hydrophober Wirkstoffe (z.B. das Chemotherapeutikum Doxorubin gegen Brust- und Eierstockkrebs) enorm zu erhöhen, und somit neben einer erhöhter Wirkstoffdosis im Zielgewebe gleichzeitig sowohl die Nebenwirkungen als auch die *Wirkstoff-Clearance* deutlich zu verringern.^[491,507]

Bei einem Großteil der malignen Tumoren unterscheidet sich hingegen das Gewebe physiologisch und biochemisch von gesundem Körpergewebe. Für diese Differenzierung gibt es viele Ursachen: Angiogenese (= Ausbildung neuer Blutgefäße), ein geschädigtes Lymphsystem oder poröse Endothelzellen (Fenestrierung). Dadurch kommt es zu einer passiven Anreicherung von Makromolekülen, Liposomen oder Nanopartikeln in Tumorgeweben (siehe Abbildung 109), dem sogenannten EPR-Effekt (engl. *enhanced permeability and retention* = „erhöhte Permeabilität und Retention“). Dies wird im gesunden Gewebe durch eine intakte Endothelschicht und ein intaktes Lymphsystem verhindert. Durch Ausnutzung des EPR-Effekts ist ein passives *Drug Targeting*, eine passive aber dennoch gezielte Pharmakotherapie möglich.^[508,509]

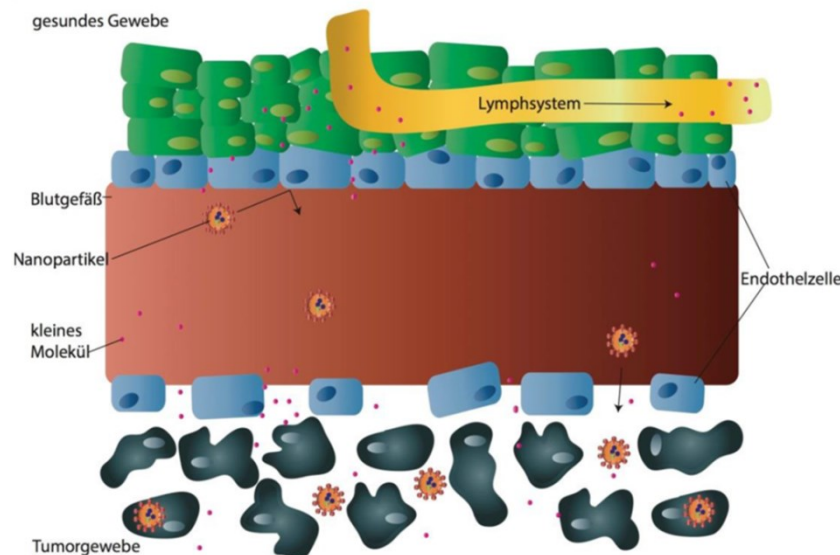


Abbildung 109: Schematische Darstellung des EPR-Effekts (engl. *enhanced permeability and retention*, dt. erhöhte Permeabilität und Retention) (modifiziert von Helen Onyema^[428] nach ^[510]).

4.6.2 Darstellung der wesentlichen Versuchsparemeter

Im Folgenden werden die für den Versuch relevanten Versuchsparemeter zur Darstellung der magnetischen, fluoreszierenden PLGA-Nanopartikel, deren Aufnahme in Glioblastomzellen sowie die Analyse der Zellen mittels fluoreszenzbasierter Durchflusszytometrie und konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie beschrieben. Darüber hinaus erfolgte eine massenspektrometrische Analyse der Proteincorona der Partikel.

4.6.2.1 Darstellung magnetischer, fluoreszierender PLGA-Nanopartikel

Das Darstellungsprinzip der mit PMI (N-(2,6-diisopropylphenyl)-perylene-3,4-dicarbonacidimide) fluoreszenzmarkierten Hybridpartikeln aus Poly(Lactid-co-Glycolid) und Magnetit beruht auf der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik.

Zur Darstellung der organischen Phase (O) wurde eine Lösung mit einer Konzentration von 30 g/L des Polymers PLGA (Poly(Lactid-co-Glycolid, Resomer® RG 752 H) zusammen mit 24 mg/L des Fluoreszenzfarbstoffs PMI (N-(2,6-diisopropylphenyl)-perylene-3,4-dicarbonacidimide) in Chloroform vorbereitet.

Bei der zweiten dargestellten Probe wurden darüber hinaus noch 6 g/L ($\pm$ 20 wt%) Ferrofluid (Webcraft GmbH, Gottmadingen, Deutschland) in die Polymerlösung eingewogen. Die kontinuierliche Phase (W) bestand aus entionisiertem Reinstwasser mit einem 3 wt% des anionischen Tensids SDS (Natriumdodecylsulfat).

Die wässrige und die organische Phase wurden im Verhältnis 8:1 gemischt, so dass sich stets ein Gesamtvolumen von 20 mL ergab. Zur Erzeugung einer Makroemulsion wurden beide Phasen unter Eiskühlung mit einem ULTRA-TURRAX® für 2 min bei 15.000 rpm dispergiert.

Die so erhaltene Präemulsion wurde unter Eiskühlung für 180 s (20 s Beschallung, 10 s Pause) mit 70 % Amplitude durch Ultraschalleintrag zerkleinert und homogenisiert. Die erhaltene Miniemulsion wurde über Nacht bei 40 °C auf eine temperierbare Schüttelplatte gestellt, um das Chloroform vollständig zu entfernen. Abschließend wurde die Partikeldispersion für 2 Tage gegen Reinstwasser dialysiert.

Die Partikelkonzentration wurde gravimetrisch bestimmt bevor die Proben für weitere Versuche an Helen Onyema weitergegeben wurden.

4.6.2.2 Nanopartikel-Aufnahme der Glioblastomzellen^[428]

Die Versuche zur Partikelaufnahme in Glioblastomzellen wurden von Helen Onyema durchgeführt.

In diesem Experiment wurde die Aufnahme der magnetischen mit SDS stabilisierten PLGA-Nanopartikeln (PLGA-FeO-SDS) in humane Glioblastomzellen der Zelllinie U-251 unter Einfluss eines Magnetfeldes (MagnetofACTOR-24 plate, Chemicell GmbH, Berlin) analysiert. Im Vergleich dazu wurde die Aufnahme von den PLGA-Partikeln mit verkapselten Eisenoxid-Nanopartikeln und von PLGA-Partikeln ohne verkapseltes Eisenoxid (PLGA-SDS) ohne Einfluss eines Magnetfeldes durchgeführt.

Die Aufnahme der Nanopartikel wurde mit einer Partikelkonzentration von 150 µg/mL für 0,5 Stunden, 1 Stunde, 3 Stunden und 6 Stunden bei 37 °C und 5% CO₂ untersucht. Zusätzlich wurden als Negativkontrolle (NK7) Zellen ohne Zugabe von Partikeln kultiviert.

4.6.2.3 Analyse der Zellen mittels fluoreszenzbasierter Durchflusszytometrie^[428]

Die Messungen zur Partikelaufnahme und Zellviabilität mittels fluoreszenzbasierter Durchflusszytometrie wurden von Helen Onyema durchgeführt.

Sowohl die Partikelaufnahme als auch die Zellviabilität wurden mit Hilfe von fluoreszenzbasierter Durchflusszytometrie untersucht. Zunächst erfolgte dafür eine Anregung der Zellen mit einem Laser bei einer Wellenlänge von 488 nm.

Dabei wurde mit dem Kanal FL1 (Filter 533/30 nm) die Fluoreszenzintensität des Fluoreszenzfarbstoffes Perylenmonoimid (PMI) der von den Zellen aufgenommenen Partikel bestimmt.

Mit Hilfe von *gates* können Bereiche, welche nicht in die Analysen miteinbezogen werden sollen, ausgegrenzt werden. Hierzu zählen Bereiche, in denen sich z.B. eine erhöhte Anzahl an bereits zerfallenen oder toten Zellen befindet.

Bei dieser Analyse wurden 10.000 *events* aus dem *gate* aufgenommen. Dabei entspricht ein *event* einer Zelle. Da Nanopartikel von sterbenden und bereits toten Zellen unspezifisch gebunden werden, wurden bei der Auswertung nur lebende Zellen „*gegatet*“. Die anschließende Analyse der Messergebnisse erfolgte mit der BD Accuri C6-Software. Bei der statistischen Auswertung der Partikelaufnahme wurde der Median aller Messergebnisse des Kanals FL1 verwendet.

Es fand eine Normierung der Messergebnisse des Medians statt, da nicht davon ausgegangen werden konnte, dass tatsächlich jeder Partikel eine identische Anzahl an Fluoreszenzfarbstoffen beinhaltet. Dazu wurde die Fluoreszenzintensität der jeweiligen Partikel dreifach spektrometrisch gemessen. Anschließend wurde mit Hilfe der Formel (94) die Normierung der Fluoreszenzintensität für die Partikelaufnahme durchgeführt:

$$\text{Normierung } FL1_{NP} = \frac{\text{Mittelwert}_{NP \text{ mit höchster Fluoreszenzintensität}}}{\text{Mittelwert}_{NP}} \cdot \text{Median } FL1_{NP}. \quad (94)$$

Gleichzeitig erfolgte eine Quantifizierung der Zellviabilität. Hierfür wurde der rote Viabilitätsfarbstoff 7-Actinoaminomycin (7-AAD) verwendet. Dieser kann nur die Zellmembran von toten bzw. sterbenden Zellen mit poröser Zellmembran durchdringen. Dabei lagert sich der Farbstoff zwischen den Basen Cytosin und Guanin der DNA ein, sodass die Färbung ausschließlich in toten bzw. sterbenden Zellen erfolgt. ^[511]

4.6.2.4 Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM)^[428]

Die Untersuchungen am CLSM zur Verifizierung der Partikelaufnahme wurden am Forschungszentrum für Immuntherapie in Mainz ebenfalls von Helen Onyema durchgeführt.

Es wurden vier unterschiedliche Farbstoffe mit sich unterscheidenden Anregungs- und Emissionswellenlängen verwendet um gezielt den Zellkern (Höchst 33342), die Zellmembran (Cell Mask™ orange) und die Lysosomen (LysoTracker® Deep Red) anzufärben, um diese von dem Fluoreszenzsignal des in den Nanopartikel verkapselten PMI-Farbstoffes unterscheiden zu können.

4.6.2.5 Massenspektrometrische Analyse der Proteincorona der Nanopartikel^[428]

Für eine Identifizierung der Proteine, welche an einer Passage der Nanopartikel über die BHS beteiligt sein könnten, wurden massenspektrometrische Messungen und Analysen vom Institut für molekulare Biologie gGmbH (IMB) in Mainz durchgeführt.

4.6.3 Diskussion der Ergebnisse

Um die Aufnahme von magnetischen, fluoreszenzmarkierten PLGA-Nanopartikeln (Poly(Lactid-co-Glycolid)) in Glioblastomzellen der Zelllinie U-251 MG unter dem Einfluss eines Magnetfelds zu untersuchen, wurden nacheinander durch Nutzung unterschiedlicher Messmethoden folgende Fragestellungen bearbeitet:

- Werden magnetische Nanopartikel unter Einfluss eines Magnetfeldes schneller in Glioblastomzellen aufgenommen? Wie groß ist dabei der Einfluss des Magnetfeldes und wie hoch der Einfluss, der erhöhten Dichte der Partikel durch die verkapselten Eisenoxid-Partikel?
- Wirken die dargestellten Nanopartikel toxisch auf die Zellen? Gibt es einen Unterschied zwischen Partikeln mit verkapseltem Magnetit und denen ohne?
- Hat das verkapselte Eisenoxid Einfluss auf die Proteincorona? Kann anhand einer massenspektrometrischen Analyse der Proteincorona der verwendeten PLGA-Nanopartikel ein Rückschluss über relevante Proteine für eine erfolgreiche Partikelaufnahme gemacht werden?

In den nachfolgenden Unterkapiteln werden diese Fragen anhand der durchgeführten Experimente und deren Ergebnisse diskutiert.

4.6.3.1 Darstellung magnetischer, fluoreszierender PLGA-Nanopartikel

Das Darstellungsprinzip der mit PMI (N-(2,6-diisopropylphenyl)-perylene-3,4-dicarbonacidimide) fluoreszenzmarkierten Hybridpartikeln aus Poly(Lactid-co-Glycolid) und Magnetit beruht auf der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik.

In Vorversuchen hat sich herausgestellt, dass der bereits im vorherigen Kapitel 4.5.3 verwendete Fluoreszenzfarbstoff Nilrot keinen ausreichenden Unterschied im Emissionsspektrum zu den Farbstoffen, die für die standardisierten Viabilitätstest üblicherweise verwendet werden, aufweist. Aus diesem Grund wurde der Farbstoff PMI (N-(2,6-diisopropylphenyl)-perylene-3,4-dicarbonacidimide, BASF, Deutschland) zur Fluoreszenzmarkierung verwendet. Dieser Farbstoff wurde bereits erfolgreich von Urban et al.^[279] zusammen mit superparamagnetischen Eisenoxid-Partikel mit der Emulsions-Lösungsmittel-Verdampfungstechnik in PLLA verkapselt.

Da allerdings nur sehr geringe Mengen des Farbstoffs zur Verfügung standen, mussten die Proben für die Zellaufnahmeexperimente im Batch hergestellt werden.

Die Partikel ohne Magnetit haben einen Durchmesser von $110 \text{ nm} \pm 43 \text{ nm}$ und sind damit etwa 20 % kleiner als die Partikel mit verkapseltem Magnetit, die einen Durchmesser von $140 \text{ nm} \pm 61 \text{ nm}$ haben; vergleiche Tabelle 29. In den vorangegangenen Versuchen zur Darstellung von Hybridpartikeln aus Poly(styrol) und Magnetit (vergleiche Kapitel 4.5.2) gab es keinen signifikanten Größenunterschied zwischen den dargestellten Nanopartikeln mit und ohne verkapselten Eisenoxid-Partikeln und auch keinen klaren Trend bei zunehmendem Anteil an verkapseltem Eisenoxid im Verhältnis zur Polymermenge.

Das ζ -Potential der beiden Partikel ist mit $-59 \text{ mV} \pm 4 \text{ mV}$ für PLGA-SDS und $-55 \text{ mV} \pm 4 \text{ mV}$ PLGA- Fe_xO_y -SDS sehr ähnlich, was darauf zurückzuführen ist, dass in beiden Fällen die Stabilisierung jeweils über SDS erfolgte.

Die Konzentration der Partikel bzw. der Feststoffgehalt der Dispersion wurde gravimetrisch bestimmt. Der Unterschied der Konzentration von $5,5 \text{ g/L}$ für PLGA-SDS im Vergleich zu $6,7 \text{ g/L}$ folgt direkt aus den 20 wt% an verkapseltem Magnetit bei ansonsten identischen Reaktionsparametern; siehe Tabelle 29.

Tabelle 29: Auflistung der Partikelgröße (gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°), des ζ -Potential sowie der Feststoffkonzentration der mit SDS stabilisierten und mit PMI fluoreszenzmarkierten PLGA-Nanopartikel ohne (PLGA-SDS) und mit verkapseltem Magnetit (PLGA-Fe_xO_y-SDS).

Probe	Partikelgröße [nm]	ζ -Potential [mV]	Konzentration [g/L]
PLGA-SDS	110 ± 43	-59 ± 4	5,5
PLGA-Fe _x O _y -SDS	140 ± 61	-55 ± 4	6,7

Auf den TEM-Bildern in Abbildung 110 ist in beiden Bildern eine relativ breite Größenverteilung zu erkennen, die allerdings der Herstellungsmethodik geschuldet ist. In dem rechten Bild, Abbildung 110 b, ist zu sehen, dass die superparamagnetischen Eisenoxid-Partikel relativ gleichmäßig in allen Partikeln verteilt sind und keine freien Partikel außerhalb einer Polymermatrix vorliegen. Das Eisenoxid hat einen deutlich größeren Kontrast (ist dunkler) als die Polymermatrix.

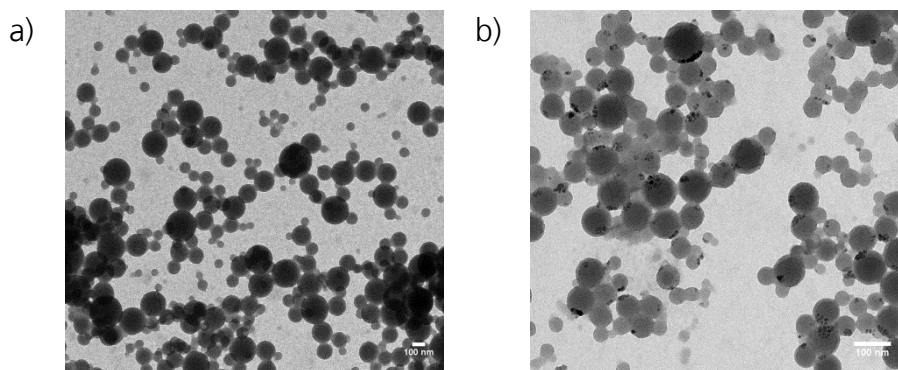


Abbildung 110: TEM Bilder von PLGA-Nanopartikel mit PMI-Farbstoff sowohl ohne (a) als auch mit verkapseltem Eisenoxid (b).

4.6.3.2 Untersuchung der Nanopartikel-Aufnahme mit magnetischen Nanopartikeln

Um die Aufnahme von magnetischen Nanopartikeln in Glioblastomzellen zu untersuchen, wurde in diesem Experiment die Partikelaufnahme mit magnetischen, fluoreszenzmarkierten PLGA-Magnetit-Hybridpartikeln (PLGA-Fe_xO_y-SDS) unter Einfluss eines Magnetfeldes sowie ohne Magnetfeld analysiert.

Für einen weiteren Vergleich wurde die Aufnahme mit Partikeln mit (PLGA-Fe_xO_y-SDS) und ohne verkapseltem Magnetit (PLGA-SDS) ohne Einfluss eines Magnetfeldes untersucht. Dazu wurden 100.000 Zellen in 1 mL DMEM-Medium pro well mit einer Fläche von 1,9 cm² ausgesät.

Die Partikelaufnahme erfolgte für 0,5 Stunden, 1 Stunde, 3 Stunden und 6 Stunden. Sowohl die Partikelaufnahme als auch die Zellviabilität wurden mit Hilfe von fluoreszenzbasierter Durchflusszytometrie bestimmt. Zur Analyse wurden 10.000 *events* aus dem *gate*, welches den Bereich mit dem höchsten Anteil lebender Zellen eingrenzt, aufgenommen.

Die fluoreszenzbasierte Durchflusszytometrie (FACS, engl. *fluorescence-activated cell sorting*) ermöglicht das Zählen und Sortieren von Zellen. Darüberhinaus können die Zellen auch im Hinblick auf ihre physikalischen und molekularen Eigenschaften analysiert werden.

Das Funktionsprinzip beruht auf der Streuung von Licht und der Emission von Fluoreszenzfarbstoffen. Fluoreszenzmarkierte und in Suspension vorliegende Zellen passieren mit Hilfe einer Trägerflüssigkeit einzeln einen fokussierten Lichtstrahl. Durch Messung des Vorwärtstreulichts (FSC) können Aussagen über die Größe der Zellen und anhand des Seitwärtstreulichts (SSC) über die Granularität der Zellen getroffen werden. Die Fluoreszenzintensität korreliert dabei mit der Anzahl aufgenommener, fluoreszenzmarkierter Partikel.^[428,512,513]

In Abbildung 111 ist die Inkubationszeit für die Partikelaufnahme gegen die Fluoreszenzintensität aufgetragen. Mit zunehmender Inkubationszeit steigt die Fluoreszenzintensität an. Dies lässt sich auf eine erhöhte Partikelaufnahme der Zellen über die Zeit hinweg zurückführen.

Insgesamt werden von PLGA-Fe_xO_y-SDS mehr Partikel aufgenommen als von PLGA-SDS. Vergleicht man die Partikelaufnahme von PLGA-Fe_xO_y-SDS mit und ohne Einfluss eines Magnetfeldes, ist eine leichte Steigerung von 5-10 % der Aufnahme unter Einfluss des Magnetfeldes erkennbar.

Für eine Beurteilung der Signifikanz der Ergebnisse wurde von Helen Onyema eine zweifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA, engl. *analysis of variance*) mit Tuckey-Post-Test durchgeführt. Dieser ergibt, dass es nach 30 minütiger Inkubationszeit keinen signifikanten Unterschied zwischen der Partikelaufnahme von PLGA-SDS und PLGA-Fe_xO_y-SDS mit und ohne Magnetfeld gibt. Nach 1 Stunde bzw. 3 Stunden Inkubationszeit gibt es immerhin einen signifikanten Unterschied von einer 3,3 %igen Wahrscheinlichkeit. Nach längerer Inkubationszeit von 6 Stunden, sinkt dieser auf eine Wahrscheinlichkeit von nur noch 0,2 %.

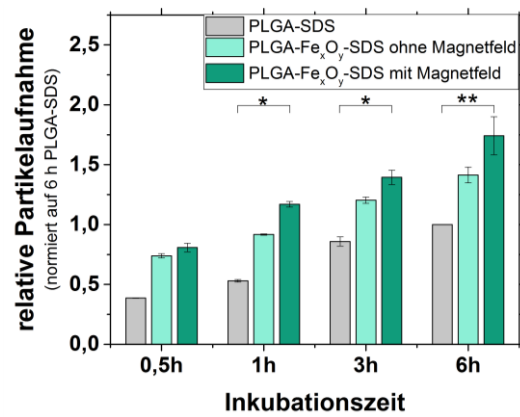


Abbildung 111: Partikelaufnahme in Zellen der humanen Glioblastomzelllinie U-251 MG von PLGA-Nanopartikeln mit (PLGA-Fe₃O₄-SDS) und ohne (PLGA-SDS) verkapselten, magnetischen Eisenoxid-Partikel jeweils stabilisiert mit SDS mit einer Partikelkonzentration von 150 µg/ml für 0,5 h, 1 h, 3 h und 6 h bei 37 °C und 5% CO₂. Zum Vergleich wurden die Versuche mit PLGA-Fe₃O₄-SDS mit und ohne Einfluss eines Magnetfeldes durchgeführt. Es erfolgte eine Normierung auf den Wert von PLGA-SDS nach 6 h. Durchführung einer zweifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) mit Tuckey-Post-Test zur Bestimmung der Signifikanz (*: P < 0,0332; **: P < 0,0021).

Gleichzeitig wurde der Einfluss der Partikelaufnahme auf die Zellvitalität experimentell untersucht. In Abbildung 112 ist der Anteil lebender Zellen nach den unterschiedlichen Inkubationszeiten (0,5 h, 1 h, 3 h und 6 h) aufgetragen. Als Referenz wurde für jede der drei Versuchreihen (PLGA-SDS, PLGA-Fe₃O₄-SDS mit und ohne Magnetfeld) eine Negativkontrolle (NK7) ohne Zugabe von Partikeln inkubiert.

Die Viabilität der Zellen liegt meist zwischen 80 % und 85 %, sowohl für die Kontrollen (NK7) als auch bei Partikelzugabe. Eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Tuckey-Post-Test kann zu keiner Inkubationszeit einen signifikanten Unterschied feststellen.

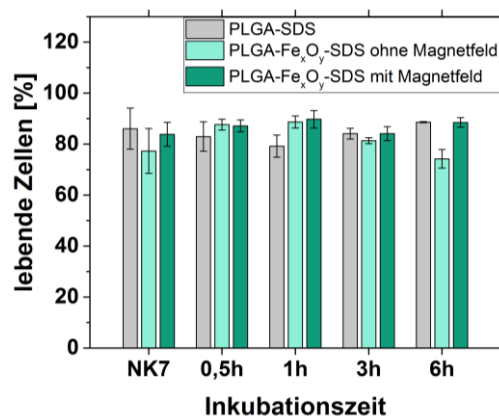


Abbildung 112: Toxizitäts- bzw. Viabilitätsanalyse für die Partikelaufnahme in Zellen der humanen Glioblastomzelllinie U-251 MG von PLGA-Nanopartikeln mit (PLGA-Fe₃O₄-SDS) und ohne (PLGA-SDS) verkapselten, magnetischen Eisenoxid-Partikel jeweils stabilisiert mit SDS mit einer Partikelkonzentration von 150 µg/ml für 0,5 h, 1 h, 3 h und 6 h bei 37 °C und 5 % CO₂ mit und ohne Einfluss eines Magnetfeldes. Für die Negativkontrolle (NK7) wurden Zellen ohne Nanopartikel kultiviert.

Somit konnte gezeigt werden, dass weder die Partikel PLGA-SDS noch PLGA-Fe_xO_y-SDS mit und ohne Einfluss eines Magnetfeldes toxisch für das Zellwachstum für Zellen der humanen Glioblastomzelllinie U-251 MG sind.

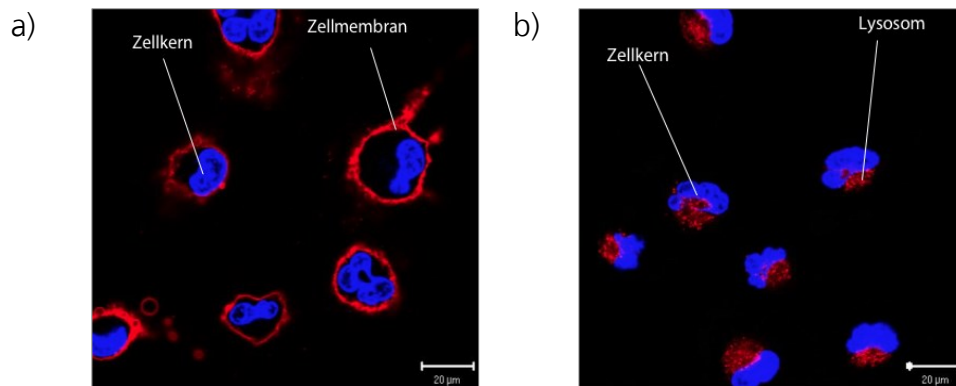
4.6.3.3 Verifizierung der Nanopartikel-Aufnahme mittels konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie

Ein Nachteil der Durchflusszytometrie ist, dass nicht nur Zellen, welche tatsächlich Partikel aufgenommen haben, detektiert werden, sondern auch solche Zellen, bei denen lediglich Partikel auf der Oberfläche adsorbiert sind. Dies hat zur Folge, dass die exakte Lokalisation der Nanopartikel durch konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM) unbedingt ergänzend verifiziert werden musste.

Im Gegensatz zur konventionellen Lichtmikroskopie wird bei der konfokalen Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM) nur ein Bruchteil des Präparates ausgeleuchtet. Das Präparat wird dabei schichtweise von einem fokussierten Laserstrahl gerastert. Dabei werden die Hintergrundsignale aus anderen Schichten auf Grund des konfokalen Aufbaus der Lichtquelle sowie der Lochblende ausgeblendet. Gleichzeitig können durch den Laserstrahl Moleküle angeregt und ihre Fluoreszenz mit aufgenommen werden. Aus den einzelnen Bildern der verschiedenen Schichten kann dann ein dreidimensionales Bild rekonstruiert werden.^[514]

Die Partikelaufnahme erfolgte für PLGA-SDS mit einer Konzentration von 150 µg/mL für 20 Stunden. Durch die Färbung von Zellmembran und Zellkern sollte eindeutig belegt werden, ob die Nanopartikel tatsächlich in den cytoplasmatischen Raum zwischen Kern und Membran aufgenommen wurden. Außerdem sollte mit Hilfe der Lysosomfärbung durch Überlagerung der Farbstoffe eine intrazelluläre Lokalisation der Partikel in den Lysosomen erbracht werden.

Negativkontrollen



PLGA-SDS

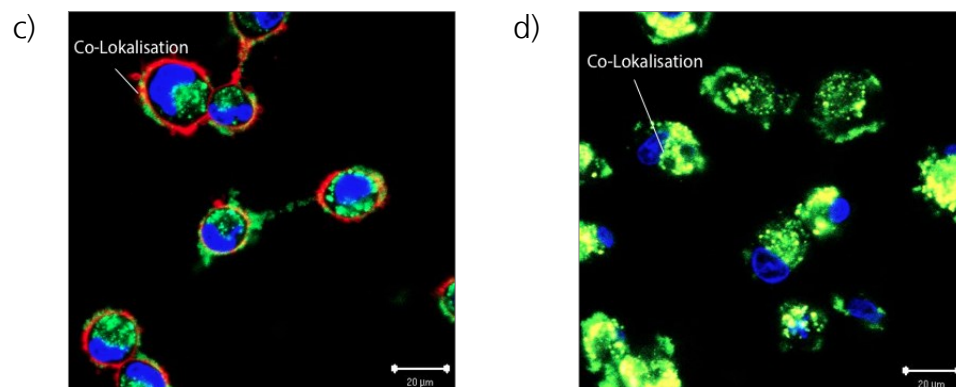


Abbildung 113: Aufnahmen der konfokalen Laser-Scanning-Mikroskopie von Zellen der humanen Glioblastomzelllinie U-251 MG. Die einzelnen Zellkompartimente wurden mit folgenden Farbstoffen angefärbt: Zellmembran rot mit Cell Mask™ orange, Zellkern blau mit Höchst 33342 und Lysosomen rot mit LysoTracker® Deep Red. a) und b) zeigen Negativkontrollen ohne eine Zugabe von Partikeln bei denen die Zellkompartimente (Zellkern, - membran und Lysosomen) angefärbt wurden. Für c) und d) wurden die Zellen mit der Probe PLGA-SDS mit einer Partikelkonzentration von 150 µg/ml für 20 Stunden bei 37 °C und 5% CO₂ inkubiert. Die Partikel wurden mit dem grün fluoreszierenden Farbstoff PMI (N-(2,6-diisopropylphenyl)-perylene-3,4-dicarbonacidimide) angefärbt. c) Zur Verifizierung der Partikelaufnahme wurden die Zellmembran in Rot und die Zellkerne in Blau angefärbt. d) Nach der Partikelaufnahme wurden der Zellkern blau und die Lysosomen rot gefärbt.

Abbildung 113 zeigt Aufnahmen der konfokalen Laser-Scanning-Mikroskopie von Zellen der humanen Glioblastomzelllinie U-251 MG. In der Abbildung 113a und in der Abbildung 113b sind Negativkontrolle zusehen, bei welchen lediglich die Zellkompartimente der Zellen (Zellkern, - membran und Lysosomen) ohne eine Zugabe von Nanopartikeln angefärbt wurden.

Bei Abbildung 113c wurden die Glioblastomzellen mit den Partikeln der Probe PLGA-SDS für 20 Stunden mit einer Partikelkonzentration von 150 µg/mL inkubiert. Danach wurden sowohl die Zellmembran als auch die Zellkerne spezifisch angefärbt.

Dadurch lässt sich bei einem Übereinanderlegen der einzelnen Bilder erkennen, dass die Mehrzahl der Nanopartikel erfolgreich in den cytoplasmatischen Raum der Zellen aufgenommen wurde. Allerdings ist ein Teil der Partikel in der Zellmembran verblieben. Dies lässt sich an der Co-Lokalisation des grünen Farbstoffs der Nanopartikel und dem roten Farbstoff der Zellmembran in Gelb/Orange erkennen.

Bei Abbildung 113d wurden die Glioblastomzellen ebenfalls für 20 Stunden mit einer Konzentration von 150 µg/mL der Partikel PLGA-SDS inkubiert. Danach wurden allerdings nicht die Zellmembran sondern die Lysosome und die Zellkerne spezifisch angefärbt. Bei Färbung der Lysosomen wurde allerdings auch teilweise die Zellmembran mit angefärbt. Auch hier kommt es zu einer Co-Lokalisation, erkennbar an der gelben Farbe. Hier überlagern sich die grüne Fluoreszenz der Partikel mit der roten der Lysosomen bzw. der teilweise ebenfalls angefärbten Zellmembran. Die Nanopartikel scheinen nur vereinzelt in den Lysosomen vorzuliegen, dennoch ist eine eindeutige Aussage auf Grund der z.T. ebenfalls eingefärbten Membran nicht möglich.

4.6.3.4 Massenspektrometrische Analysen der Proteinkorona

Werden Nanopartikel einer biologischen Umgebung ausgesetzt, erfolgt eine Bedeckung mit Biomolekülen vorallem durch Proteine aufgrund von Sorptionsisothermen.^[45] Die Ausbildung einer Proteinkorona findet innerhalb weniger Sekunden statt, wobei sie allerdings einem teilweise reversiblen Prozess unterliegt.^[500]

Der Aufbau dieser spezifischen Proteinkorona ist für die biomedizinische Anwendung von Nanomaterialien von höchster Relevanz, da die Wechselwirkung mit den biologischen Systemen nicht mehr durch die eigentliche Oberfläche der Kolloide bestimmt wird, sondern durch die resultierende Proteinkorona.^[45] Die Zusammensetzung dieser individuellen Proteinkorona definiert die biologische Identität der Nanopartikel und vermittelt Zellantworten, Nano- und Ökotoxizitäten.^[515,516]

Die Massenspektrometrie wird zur Identifizierung von Proteinen und Peptiden mit Hilfe einer Ionenquelle verwendet. Als Ionenquelle wird entweder die matrixunterstützte Laserdesorptionsionisation (MALDI, *matrix-assisted laser desorption-ionisation*) oder die Elektronensprayionisation (ESI, *electrospray ionisation*) eingesetzt. Die Ionenquelle wandelt die Analyten in gasförmige Ionen um. Diese werden dann durch ein elektrisches Feld in Richtung eines Detektors beschleunigt. Gleichzeitig wird anhand von Flugzeit-Messanalysatoren (TOF, *time-of-flight*) die Flugzeit der Ionen bis zum Erreichen des Detektors gemessen.

Da die Geschwindigkeit eines Ions abhängig von seiner Masse und seiner Ladung ist, kann so die Identifizierung der Peptide und Proteine unter Zuhilfenahme einer Datenbank erfolgen ^[517].

Es wurden massenspektrometrische Analysen der Proteinkorona der Partikel PLGA-SDS und PLGA-Fe_xO_y-SDS durchgeführt, um verantwortliche Proteine für eine erfolgreiche Partikel Aufnahme in Zellen der humanen Glioblastomzelllinie U-251 MG zu identifizieren. Darüber hinaus wurde untersucht, ob die verkapselten, magnetischen Eisenoxid-Partikel einen Einfluss auf die Zusammensetzung der Proteinkorona haben.

Zur Ausbildung der Proteinkorona wurden die Partikel für eine Stunde bei 37 °C und 500 U/min mit Blutplasma inkubiert. Um die Intensitäten der Nanopartikel von den Intensitäten der Proteine subtrahieren zu können, wurden zur Referenz die Nanopartikel unter den gleichen Bedingungen mit PBS inkubiert.

Die genauen Zahlenwerte der Zusammensetzung der jeweiligen Proteinkorona sind in Tabelle 30a und Tabelle 30b zusammengefasst.

Tabelle 30: Auflistung der jeweils 10 häufigsten Proteine in der Proteinkorona von PLGA (a) und PLGA-Fe_xO_y-SDS (b) nach massenspektrometrischen Analysen. Zur Vorbereitung wurden Partikel mit jeweils einer Gesamtoberfläche von 0,1 m² mit 500 µl Blutplasma für eine Stunde bei 500 U/min auf dem Heiz-ThermoMixer bei 37 °C inkubiert.

a)

PLGA-SDS	
Protein	Anteil an Proteinkorona
Albumin	20,1%
Apolipoprotein H	7%
<i>Complement component 3</i>	3,8%
Fibrinogen gamma chain	2,1%
Filamin B, beta	7,1%
Gamma actin	17,1%
Hemoglobin subunit epsilon	4%
Histidine-rich glycoprotein	12,3%
Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4	5,5%
Talin 1	5,5%
Sonstige	12,5%

b)

PLGA-Fe _x O _y -SDS	
Protein	Anteil an Proteinkorona
Albumin	8,3%
<i>Complement component 3</i>	12,2%
<i>Complement factor H</i>	4,8%
Fibrinogen alpha chain	4,4%
Fibrinogen gamma chain	5%
Filamin B, beta	4,7%
Gamma actin	9%
Histidine-rich glycoprotein	6,6%
Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4	5,1%
Kininogen-1	5,3%
Sonstige	34,6%

Die Ergebnisse der beiden massenspektrometrischen Analysen werden in Abbildung 114 graphisch dargestellt.

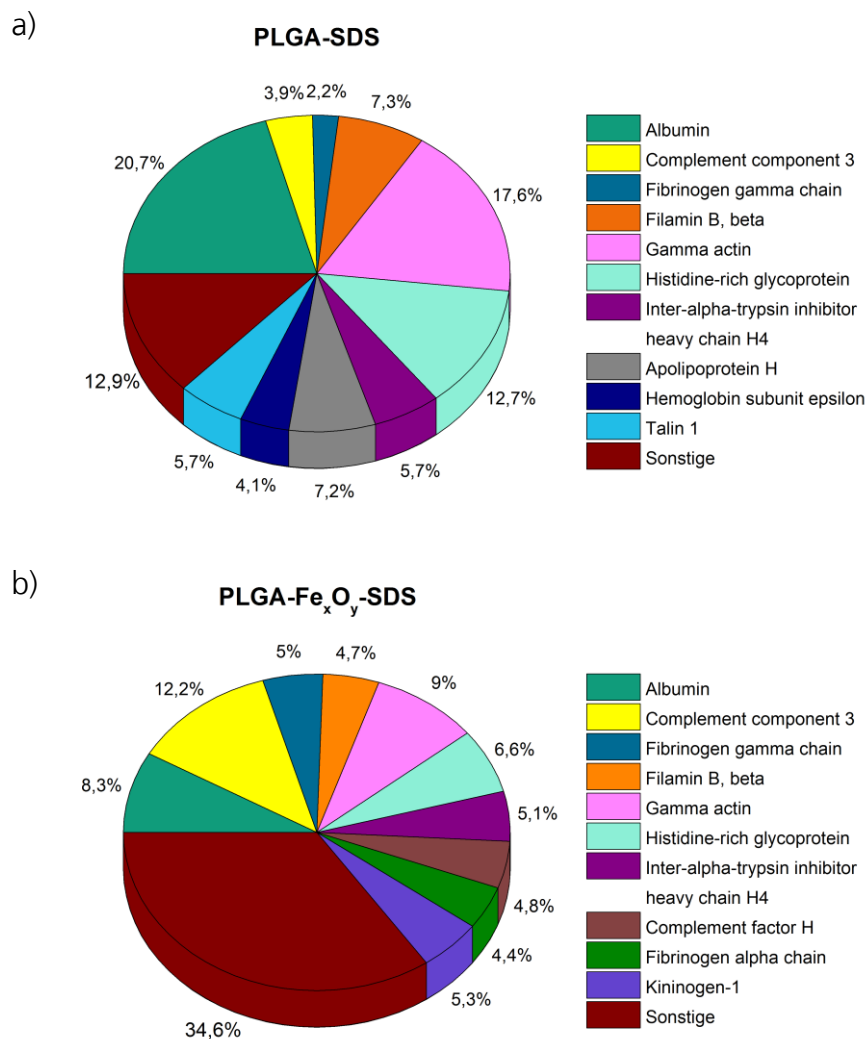


Abbildung 114: Massenspektrometrische Analysen der Proteinkorona von PLGA-SDS und PLGA-Fe_xO_y-SDS. Zur Vorbereitung wurden Partikel mit jeweils einer Gesamtoberfläche von 0,1 m² mit 500 µl Blutplasma für eine Stunde bei 500 U/min auf dem Heiz-ThermoMixer bei 37 °C inkubiert. Die Messungen und Analysen wurden vom Institut für molekulare Biologie gGmbH (IMB) in Mainz durchgeführt. Die Kreisdiagramme zeigen die 10 Proteine, welche den größten Anteil an der Proteinkorona besitzen.

Bei den Partikeln PLGA-SDS machen die drei Proteine Albumin (20,1 %), Gamma actin (17,1 %) und Histidin-rich glycoprotein (12,3 %) fast die Hälfte aller Proteine der Proteinkorona aus.

Die drei in der Proteinkorona der Partikel PLGA-Fe_xO_y-SDS am häufigsten vertretenen Proteine sind Complement component 3 (12,2 %), Gamma actin (9,0 %) und Albumin (8,3 %).

Die Proteinkorona enthält keine Apolipoproteine, aber dafür insgesamt 9,4 % Fibrinogene (Summe aus den Anteilen von Fibrinogen gamma chain und Fibrinogen alpha chain).

Die verkapselten Eisenoxid-Partikel haben augenscheinlich einen enormen Einfluss auf die Proteinkorona der Partikel.

Am größten ist der Unterschied im Albuminanteil, dieser ist bei PLGA-SDS 2,5fach so hoch wie bei PLGA-Fe_xO_y-SDS. Auch der Gehalt an Gamma actin ist fast doppelt so hoch bei PLGA-SDS im Vergleich zu PLGA-Fe_xO_y-SDS. Dafür beträgt der Anteil an Complement component 3 in der Proteinkorona von PLGA-SDS nur ein Viertel verglichen mit PLGA-Fe_xO_y-SDS.

4.6.4 Schlussfolgerung

Bei Untersuchungen zum Wirkstofftransport über die BHS mit anschließender Wirkstofffreisetzung haben sich polymere Nanopartikel als einer der erfolgversprechendsten Trägersysteme ergeben.^[518,519] Die Untersuchungen der BHS in dieser Arbeit konzentrierten sich auf die humane Glioblastomzelllinie U-251 MG. Die Glioblastomzellen gehören zu den Gliazellen und stellen eine der wichtigsten Zielzellen für Nanopartikel als Wirkstofftransporter ins Hirn dar.

Eine gesteigerte Partikelaufnahme von PLGA-Nanopartikeln mit verkapselten, magnetischen Eisenoxid-Partikeln in Zellen der humanen Glioblastomzelllinie U-251 MG wurde unter Einfluss eines magnetischen Feldes beobachtet. Bereits ohne Magnetfeld zeigte sich eine erhöhte Aufnahme der Partikel mit verkapseltem Magnetit im Vergleich zu Partikeln ohne. Die Eisenoxid-Partikel erhöhen die Dichte der Nanopartikel, sodass diese schneller sedimentieren. Somit erreichen die Partikel die adhärenen Zellen am Boden des Gefäßes früher und können so eher aufgenommen werden. Wie bereits in anderen Arbeiten gezeigt werden konnte, hat die Aufnahme der magnetischen PLGA-Partikel in die Zellen keinen negativen Einfluss auf das Zellwachstum.^[520]

Da bei der fluoreszenzbasierten Durchflusszytometrie nicht nur Zellen detektiert werden, welche Nanopartikel erfolgreich in ihrem Cytoplasma aufgenommen, sondern auch solche, die lediglich auf ihrer Oberfläche absorbiert werden, erfolgte zusätzlich eine Verifizierung der Partikelaufnahme mittels konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM).

Hierbei wurde deutlich, dass die PLGA-Nanopartikeln größtenteils erfolgreich in den cytoplasmatischen Raum der Glioblastomzellen aufgenommen worden sind. Ein geringer Anteil der Partikel lag jedoch auch in der Zellmembran vor.

Da die Verkapselung von Eisenoxid-Partikeln in eine kolloidale PLGA-Matrix einen starken Einfluss auf die Zusammensetzung der Proteincorona zu haben scheint, unterscheiden sich die ansonsten sehr ähnlichen Nanopartikel deutlich voneinander. Daher wäre es interessant auch mit den PLGA-Partikeln mit verkapseltem Eisenoxid noch mikroskopische Aufnahmen der Zellaufnahme zu untersuchen.

Die Aufnahme von Nanopartikeln durch Zellen erfolgt meist über Rezeptor- oder Adsorptions-vermittelte Endozytose. Durch die Aufnahme der Partikel in Endosomen sinkt ihr pH-Wert in den sauren Bereich, so dass sie sich weiter zu Lysosomen entwickeln.

Dies hat zur Folge, dass die Partikelhülle abgebaut und der verkapselte Inhalt freigesetzt wird.^[521] Daher wurde erwartet, dass eine Vielzahl der Partikel in Lysosomen bzw. Endolysosomen (= mit Lysosomen verschmolzene Endosomen) vorzufinden sind.^[522–525]

Dies wäre durch Co-Lokalisationen in gelb bzw. orange des roten Lysosomenfarbstoffes mit dem grünen Farbstoff der PLGA-Partikel zu beobachten gewesen.

In der Arbeit von Fröhlich *et al.*^[526] wurden Polystyrol-Nanopartikeln mit einer Größe von über 100 nm erst nach 24 Stunden in lysosomalen Strukturen vorgefunden. Da im Rahmen dieser Arbeit allerdings nur eine Inkubation für 20 Stunden erfolgte, ist davon auszugehen, dass sich die PLGA-Partikel noch in frühen endosomalen Strukturen befinden. Diese Strukturen sind nicht sauer, sodass sie sich nicht mit dem Lysosomenfarbstoff LysoTracker® Deep Red anfärben lassen. Hinzu kommt, dass eine exakte Lokalisierung von PLGA-SDS nicht möglich war, da auch ein Anfärben der Zellmembran stattgefunden hat. Dies lässt vermuten, dass durch in bzw. an der Membran befindliche Partikel der pH-Wert dort sehr stark gesenkt wurde und diese deswegen ebenfalls angefärbt wurde.

Tumorzellen, wie die Glioblastoma, besitzen eine hohe Anzahl an LDL-Rezeptoren an ihrer Zellmembran, welche ApoE als Liganden haben.^[527] Bereits in anderen Arbeiten konnte beobachtet werden, dass bei Stabilisierung mit Tween®80 die Proteincorona zu einem großen Teil aus ApoE besteht, was dann zu einer erhöhten Partikelaufnahme der Zellen führte.^[428]

Alle im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Nanopartikel wurden mit SDS stabilisiert und zeigen keine erhöhten Mengen an Apolipoproteinen in ihrer Proteinkorona, was eine gezielte Partikelaufnahme ins Cytoplasma der Zellen fördern würde. Außerdem besitzt PLGA-SDS einen hohen Anteil an Albumin in seiner Proteinkorona. Dies kann nach Ergebnissen von Zensi *et al.*^[528] eine Partikelaufnahme an der BHS stark reduzieren. Bei Verwendung von auf Albumin basierten Nanopartikeln ist eine erfolgreiche Aufnahme der Partikel ins Cytoplasma nur durch Funktionalisierung mit Apolipoproteinen möglich.^[528] Die Ergebnisse der Masterarbeit von Helen Onyema^[428] unterstützen die Hypothese, dass eine Aufnahme von Nanopartikeln ausschließlich ins Cytoplasma nur dann erfolgt, wenn die Proteinkorona zu einem Großteil aus Apolipoproteinen und Complement components besteht.^[428] Daher wären zukünftige Aufnahmestudien mit den Partikeln PLGA-Fe_xO_y-SDS äußerst interessant, da diese im Vergleich zu PLGA-SDS einen deutlich geringeren Anteil an Albumin und dafür einen wesentlich höheren Anteil an Complement components in ihrer Proteinkorona aufweisen.

5 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurde die reproduzierbare Darstellung polymerbasierter Nanopartikel mit kontrollierten Eigenschaften untersucht, ein kontinuierlicher Prozess entwickelt und ein daraus resultierender Laboraufbau etabliert. Dieser Laboraufbau basiert auf einer Kombination der Miniemulsionstechnik mit der Lösungsmittelverdampfungsmethode, der sogenannten „*emulsion solvent evaporation technique*“. Diese Technik stellt ein wertvolles Verfahren dar, um eine breite Palette polymerbasierter funktioneller Verbundwerkstoffe im Submikrometerbereich herzustellen und hydrophobe Materialien effektiv zu verkapseln.

Der hier entwickelte kontinuierliche Prozess erlaubt durch Anpassung der Reaktionsparameter die reproduzierbare Darstellung unterschiedlicher polymerer Nanopartikel mit Durchmessern zwischen 50 nm und 250 nm. Im Vergleich zur Durchführung mittels der klassischen Batch-Methodik konnte eine engere Größenverteilung sowie ein höherer Grad der Verkapselung in deutlich kürzerer Zeit und mit wesentlich geringerem Energieaufwand realisiert werden.

Die Prozessführung erfolgt durch Verwendung eines statischen Mikromischers mit nachgeschalteter Durchflussultraschallzelle, um so eine Miniemulsion mit definierter Tröpfchengröße herzustellen. Direkt im Anschluss erfolgt das effiziente Verdampfen des Lösungsmittels der kontinuierlichen Phase mittels eines Fallfilmmikroreaktors als sogenanntes „*Downstream Processing*“. Die resultierende wässrige Nanopartikeldispersion erfordert so keine weitere Aufreinigung.

Wesentlich zur Gestaltung des Gesamtprozesses waren die Untersuchungen des STACK-1x-FFMR-LAB-V2 Fallfilmreaktors bezüglich seiner Wirksamkeit für das kontinuierliche Stripping von Tetrahydrofuran (THF) aus dem eingesetzten THF-Wasser-Gemisch (33 Vol% THF in Wasser). Dafür wurde der Massentransfer für das Stripping mit Stickstoff bei unterschiedlichen Reaktionsparametern (Temperatur, Flüssigkeits- und Gasflussrate) gemessen. In enger Zusammenarbeit mit der Simulationsabteilung des Fraunhofer IMM wurde ein Massentransfermodell zur Beschreibung des Strippingprozesses eines binären Systems entwickelt, das eine gute Übereinstimmung mit den experimentell gewonnenen Daten besitzt.

Darüber hinaus konnte die Eignung des Fallfilmreaktors für effizientes Verdampfen im Rahmen des *Downstream Processings* bei der Herstellung sowohl von Poly(lactid-co-glycolid)-Nanopartikeln (PLGA) als auch von Pluronic® L121-Polymersomen mit der Nanopräzipitationsmethode demonstriert werden.

Dabei wurde gezeigt, dass es durch das extrem schnelle Abdampfen von THF als Co-Lösungsmittel im Falle der Herstellung der Pluronic® L121-Polymersomen zu keiner Änderung der Größe oder Güte der Kolloide kommt.

Dahingegen wurden bei der Darstellung von PLGA-Nanopartikeln unter Einsatz des Fallfilmmikroreaktors zum kontinuierlichen Abdampfen des THF als selektivem Lösungsmittel kleinere Partikel mit einer etwas engeren Größenverteilung erhalten im direkten Vergleich zu den Partikeln, bei denen das Abdampfen im Batch stattgefunden hat.

Das sehr schnelle, kontinuierliche Abdampfen des Antisolvents über den Fallfilmmikroreaktor zeigt somit einen positiven Einfluss auf die Größenverteilung und damit die Güte der Partikel bei der Herstellung von PLGA-Nanopartikeln über Nanopräzipitation.

Basierend auf diesen Ergebnissen wurde eine Versuchsanlage zur kontinuierlichen Darstellung polymerer Nanopartikel mit der Miniemulsionstechnik in Verbindung mit der Lösungsmittelverdampfungsmethode entwickelt, konstruiert und aufgebaut.

Eine Evaluierung erfolgte durch Untersuchung des Einflusses einzelner Reaktionsparameter (Polymer- und Tensidkonzentration, Molekulargewicht, Mischverhältnis) auf die resultierende Partikelgröße und deren Reproduzierbarkeit mit Polystyrol als Referenzpolymer.

Bei dieser Versuchsreihe konnten reproduzierbar Partikel mit mittleren Durchmessern zwischen 50 nm und 250 nm hergestellt werden. Gleichzeitig wurde exemplarisch gezeigt, dass geringe Änderungen der Reaktionsparameter reproduzierbar Änderungen der Partikeleigenschaften hervorrufen.

Um die Eignung des Aufbaus für eine Vielzahl unterschiedlicher Polymere zu demonstrieren, wurden exemplarisch einige ausgewählte Beispiele (Polylactid und Poly(lactid-co-glycolid) (PLGA)) näher untersucht.

Der Aufbau ist ebenfalls zur Darstellung unterschiedlicher Hybridpartikel geeignet: Modellhaft wurde das Potential einer hocheffizienten Verkapselung hydrophober Komponenten in einer Polymermatrix anhand von Polystyrol-Nanopartikeln mit unterschiedlichen Massenanteilen an magnetischen Eisenoxid-Partikeln demonstriert.

Es hat sich gezeigt, dass dadurch sogar höhere Verkapselungseffizienzen im Vergleich zur Literatur erzielt werden konnten.

Darüber hinaus wird durch die Darstellungsmethode der Partikel – die Kombination aus Miniemulsionstechnik und Lösungsmittelverdampfungsmethode – eine Kontrolle über die Partikelmorphologie ermöglicht; dies wurde durch die Darstellung polymerer Janus-Partikel – bestehend aus Polystyrol und Poly-L-Lactid – in unterschiedlichen Zusammensetzungen gezeigt.

Besonders für biomedizinische Anwendungen ist es oftmals in der Diagnostik notwendig, eine Fluoreszenzmarkierung zu nutzen. Daher wurde Nilrot als fluoreszierende Modellsubstanz mittels PLGA als polymerer Matrix kolloidal verkapselt. Dabei zeigten sich abhängig von der Art der Prozessführung deutliche Unterschiede im Lumineszenzverhalten der isolierten Nanopartikel. Während die klassische Batch-Methodik fluoreszierende Partikel generierte, wurde bei kontinuierlicher Prozessführung eine Löschung der Fluoreszenz durch die Verkapselung beobachtet.

Dies kann auf das extrem schnelle Abdampfen des organischen Lösungsmittels über den Fallfilmmikroreaktor zurückgeführt werden. Interessanterweise hat sich auch gezeigt, dass durch ein Auflösen der Partikel und erneute Bildung im Batch-Verfahren vergleichbare Fluoreszenzwerte zu den Partikeln, die direkt im Batch hergestellt wurden, erzielt werden konnten, was beweist, dass es durch die kontinuierliche Verkapselung zu keinen negativen Einflüssen auf den Farbstoff gekommen ist.

Perspektivisch könnten diese kontinuierlich prozessierten Partikel als molekulare Sonden von Bedeutung sein, bei denen erst ein Fluoreszenzsignal auftritt, wenn der Farbstoff aus dem Hybridpartikel freigesetzt wird.

Durch eine kontinuierliche Prozessführung kann so ein „Ausschalten“ der Fluoreszenz bei Verkapselung und ein erneutes „Einschalten“ zur Verfolgung der Freisetzung gezielt herbeigeführt werden.

Derartige nanopartikuläre Sonden sind von besonderem Interesse für biomedizinische Untersuchungen, bei welchen eine getriggerte Wirkstofffreisetzung erst am Zielort erfolgen soll. Konventionelle fluoreszenzmarkierte Partikel leuchten zu jeder Zeit und es ist nicht unbedingt eindeutig zu belegen, ob das Fluoreszenzsignal von dem gesamten Hybridpartikel kommt oder lediglich von einem einzelnen Farbstoffmolekül nach einer Wirkstofffreisetzung.

Demgegenüber hätte die Sonde den Vorteil, dass erst bei Freisetzung ein Fluoreszenzsignal beobachtet werden könnte und so die genaue Zeit oder Zeitspanne sowie der Ort bestimmt werden könnten.

An dieser Stelle würden sich weitere Versuche anbieten, die sich mit folgenden Fragestellungen beschäftigen:

- Nutzung einer Polymermatrix bei der eine gezielte Freisetzung z.B. durch Temperatur oder pH-Wert getriggert werden kann.
- Experimente zur gleichzeitigen Verkapselung weiterer Substanzen wie z.B. von Wirkstoffen.
- Untersuchungen von geeigneten solvatochromen Farbstoffen, auch unter relevanten physiologischen Bedingungen.

Polymere Nanopartikel sind eines der erfolgversprechendsten Trägersysteme für den Wirkstofftransport über die Bluthirnschranke mit anschließender Wirkstofffreisetzung. Um die Überwindung der Bluthirnschranke zu fokussieren, wurden magnetische Eisenoxid-Partikel in Poly(lactid-co-glycolid)-Nanopartikeln verkapselt. Die Eisenoxid-Partikel bieten nicht nur die Möglichkeit, über ein externes Magnetfeld gezielt angereichert zu werden, sondern auch über Hyperthermie für eine gezielte Wirkstofffreisetzung genutzt zu werden. Darüber hinaus können sie gleichzeitig für bildgebende *in vivo*-Verfahren verwendet werden.

Um dies zu zeigen, wurde in abschließenden Zellversuchen mit der humanen Glioblastomzelllinie U-251 MG, die Partikelaufnahme von Poly(lactid-co-glycolid)-Nanopartikeln mit und ohne verkapselte magnetische Eisenoxid-Partikel in An- und Abwesenheit eines Magnetfeldes untersucht.

Bereits ohne Einfluss eines Magnetfeldes wurde eine gesteigerte Partikelaufnahme im Vergleich zu vergleichbaren Nanopartikeln ohne Eisenoxide erzielt. Durch Anlegen eines Magnetfeldes wurde eine schnellere und signifikant erhöhte Aufnahme beobachtet. Die Aufnahme der Nanopartikel hatte keinen negativen Einfluss auf die Viabilität der Zellen. Die Ergebnisse sind eine vielversprechende Grundlage für weitere Untersuchungen mit einer zusätzlichen Beladung der Partikel mit einem Wirkstoff.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind damit richtungsweisend für eine schnelle, kostengünstige Darstellung polymerbasierter Nanopartikel mit breitem Anwendungsspektrum und die eigens entwickelte Versuchsanlage erlaubt selbst die Herstellung komplexer biomedizinisch-relevanter Nanopartikel.

Das entwickelte kontinuierliche Verfahren bietet nicht nur die Möglichkeit zur Herstellung maßgeschneiderter Hybridpartikel, sondern besitzt auch in Zukunft durch eine automatisierte Prozesssteuerung sowie die Integration von inline/online Analytik großes Potential um den Prozess und die Anlage für ein steriles, GMP-konformes Arbeiten zu modifizieren.

Je nach Anwendung kann es langfristig notwendig werden, den Durchsatz des entwickelten Verfahrens zu erhöhen. Dafür bietet die Mikroverfahrenstechnik Möglichkeiten, dies durch *Scale-up* oder ein *Numbering-up* aufgrund des hohen Prozessverständnisses vergleichsmäßig einfach zu erreichen.

In der vorliegenden Doktorarbeit wurde eingehend die kontinuierliche Herstellung und Aufarbeitung polymerer Nanopartikel sowie die Verkapselung hydrophober Substanzen untersucht. Aufbauend auf den daraus resultierenden Erkenntnissen wurde ein Verfahren entwickelt sowie ein Laboraufbau konzipiert und evaluiert.

Die Vielfalt der bereits erfolgreich hergestellten Nanopartikel in Verbindung mit dem generierten hohen Prozessverständnis legen eine wertvolle Grundlage für weitere Forschungsarbeiten zur reproduzierbaren Herstellung maßgeschneiderter, funktioneller Hybridpartikel für die unterschiedlichsten Anwendungsgebiete.

6 EXPERIMENTELLER TEIL

6.1 Verwendete Chemikalien und Lösungsmittel

Chloroform: 99.0-99.4% stabilisiert, AnalaR NORMAPUR® ACS, Reag. Ph. Eur. zur Analyse, VWR Chemicals, Deutschland.

Ferrofluid: (hydrophobe mit Ölsäure stabilisierte Eisenoxid-Partikel), Webcraft GmbH, Gottmadingen, Deutschland bezogen.

Nilrot: Fluka, Buchs, Schweiz

PLGA: Poly(D,L-lactid-co-glycolid), Resomer® RG 752 H, acid terminated, Lactid zu Glycolid-Verhältnis = 75:25, Sigma-Aldrich, Mw = 4.000-15.000 g/mol, Sigma Aldrich, Deutschland.

PLLA: Biomer L9000, Hersteller: Biomer, Poly(L-lactid), Mn ~ 66500 g/mol, Mw ~ 145000 g/mol.

Pluronic® L121: Poly(ethylene glycol)-block-poly(propylene glycol)-block-poly(ethylene glycol), Mn ~4,400, Sigma-Aldrich, Deutschland.

PMI: N-(2,6-diisopropylphenyl)-perylene-3,4-dicarbonacidimide (PMI), BASF, Deutschland.

Polystyrol: drei unterschiedliche Molmassen ($M_w = 35.000$ g/mol, $M_w = 192.000$ g/mol und $M_w = 280.000$ g/mol), Sigma-Aldrich, Deutschland.

Reinstwasser: Milli-Q Plus, Merck Millipore, Deutschland.

SDS: Sodiumdodecylsulfat, Sigma Aldrich, Deutschland.

THF: $\geq 99.9\%$, inhibitor-free, Sigma-Aldrich, Deutschland.

Die für die Zellaufnahmestudien in Kapitel 4.6 benötigten Geräte, Chemikalien, etc. werden separat in Kapitel 6.3.6 aufgelistet.

6.2 Verwendete Geräte

Im Folgenden werden die in dieser Arbeit verwendeten Geräte aufgeführt mit Ausnahme derer aus den Zellaufnahmestudien (Kapitel 4.6), diese werden gesondert in Kapitel 6.3.6.7 aufgeführt.

6.2.1 Partikelherstellung

HPLC Pumpe: AZURA P 4.1S, Knauer, Berlin, Deutschland, mit 10 mL/min Pumpenkopf aus Edelstahl.

Spritzenpumpe: Nexus 6000 Syringe Pump, nexus automation GmbH, Eberstallzell, Österreich.

SIMM-V4: statischer Mikromischer SIMM-V4, Fraunhofer IMM, Mainz, Deutschland.

ULTRA-TURRAX®: T 18 digital ULTRA-TURRAX®, IKA®-Werke GmbH & Co. KG Staufen, Deutschland.

Die Ultraschalldurchflusszelle der Firma Hielscher (Berlin, Deutschland) bestand aus folgenden Einzelkomponenten:

- UIS250MFC: Ultraschall-Prozessor in Spezialausführung zum Betreiben einer Mini-Durchflusszelle (DMINI), Leistung: 250 Watt, Frequenz 24kHz, automatische Frequenzregelung, Amplitude einstellbar 20-100%, Generator und Schallwandler getrennt
- DMINI: spezielle Mini-Durchfluss-Zelle/Minireaktor mit Glasrohr als Beschallungsraum, Ø innen: 2,4mm, Länge: ca. 300mm, davon Beschallungszone: 140mm, im Edelstahlmantel, mit je 2 Anschlüssen für Kühl- und Schallübertragungsflüssigkeit
- ST250 UIP250: Stativ zur Aufnahme eines UIP250MFC mit DMINI aus Edelstahl
- ValveMano für UIS250MF: Regulierbares Überdruckventil mit Manometer zur Regelung und Anzeige des Druckes der Kühl- und Schallübertragungsflüssigkeit an der DMINI
- PowMet230: Leistungs-Messgerät PowMet230, für die Anzeige der Momentanleistung, der kumulierten Energieaufnahme und kumulierten Betriebszeit, 230V-1P, 50-60Hz.

Fallfilmmikroreaktor: STACK-1x-FFMR-LAB-V2, Fraunhofer IMM, Mainz, Deutschland.

LAUDA ECO E 4 Temperierbad, LAUDA DR. R. WOBSE GMBH & CO. KG, Lauda-Königshofen, Deutschland.

Postnova PN 1610 Syringe Dosing System pump, Postnova Analytics GmbH, Landsberg am Lech, Deutschland.

Branson 450 W Digital Sonifier, Marshall Scientific, USA.

Temperierbare Schüttelplatte: DITABIS HLC Heiz-Thermomixer MHR 23, DITABIS AG - Digital Biomedical Imaging Systems AG, Pforzheim, Deutschland.

Vortexer, Heidolph™ Vortex Top Mix Stirrers, Thermo Fisher Scientific, Deutschland.

Magnetrührer mit Thermometer, Heidolph, Schwabach, Deutschland.

Kern ABJ 320-4NM Feinwaage, KERN & SOHN GmbH, Balingen-Frommern, Deutschland.

6.2.2 Lichtstreuung

Die Partikelgröße und Standardabweichung wurde mit dynamischer Lichtstreuung an einem NANO-flex® (Microtrac, Meerbusch, Deutschland) bei einem Winkel von 180° ohne weitere Aufreinigung bestimmt. In Einzelfällen wurden die Proben mit Reinstwasser zum Messen verdünnt.

6.2.3 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Die Morphologie der Partikel wurde mit einem Zeiss EM 902 Transmissionselektronenmikroskop bei 120 kV Beschleunigungsspannung mit einer CCD-Kamera aufgenommen.

Dazu wurden die Dispersionen mit Reinstwasser verdünnt, auf 300er Kohlenstoffbeschichteten Kupfergrids getropft und bei Raumtemperatur getrocknet.

Für die Cryo-TEM-Aufnahmen wurde ein Vitrobot (FEI) zur Vitrifizierung der Proben genutzt. Die Grids (Holey Carbon Films R2/1, Quantifoil) wurden im Plasma-Ofen im Argon-Sauerstoff-Strom gereinigt und anschließend 5 µL Probe aufgetragen.

Die Probe wurde in kondensiertem Propan unter Kühlen mit flüssigem Stickstoff vor der TEM-Analyse schockgefroren.

Ein Großteil der in dieser Arbeit gezeigten TEM-Analysen wurde dankenswerterweise von (oder nach Anleitung von) Raphael Thiermann aufgenommen.

6.2.4 Dichtemessung

Für die Dichtemessungen wurde mit dem Dichtemessgerät Mettler Toledo D45 mit automatisierter Probenzufuhr und Reinigungseinheit SC1 von der Mettler-Toledo GmbH (Gießen, Deutschland) gearbeitet. Durch einen Ansaugschlauch konnte die Messzelle gespült und anschließend befüllt werden. Das Gerät hat automatisch die Probe auf die jeweils eingestellte Temperatur temperiert und so lange Messungen durchgeführt bis die Ergebnisse konstant waren.

6.2.5 UV/VIS-Spektroskopie

Die UV/VIS-Spektren wurden mit dem UV/VIS-Spektrometer Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer des Herstellers Agilent Technologies (Deutschland) durchgeführt.

Die UV/VIS-Spektren wurden in einem Wellenlängenbereich von 1050 nm bis 200 nm mit einer Geschwindigkeit von 200 nm/min gemessen. Die Konzentration der Proben wurde so angepasst, dass die Absorption < 1 war. Die Messungen erfolgten in Präzisions-Küvetten aus optischem Spezialglas der Firma Hellma. Die Auswertung erfolgte mit der Software „Excel“.

6.3 Versuchsdurchführung

Im Folgenden werden die genauen Versuchsdurchführungen unter Angabe aller Reaktionsparameter detailliert beschrieben.

Vor jeder Synthese im Mikromischer wurden die Pumpen auf Ungenauigkeiten der Flussrate, die Mischer auf Verstopfung und die Schläuche auf Verunreinigungen geprüft.

Nachdem durch Starten der Pumpen der jeweilige Prozess gestartet wurde, wurde das 1,5 fache des Totvolumens des jeweiligen Aufbaus an eluierter Probe verworfen, um sicher zu stellen, dass der Prozess einen stabilen Zustand erreicht hat. Danach wurden die Proben in Schraubdeckelgläsern aufgefangen.

6.3.1 Verdampfen von THF aus einem THF-Wasser-Gemisch durch Stickstoff Stripping mit dem Fallfilmmikroreaktor STACK-1x-FFMR-LAB-V2

Die Versuche zum Strippen von THF wurden mit einer wässrigen 33 %igen THF-Lösung (Volumenprozent) mit einem STACK-1x-FFMR-LAB-V2^[198] Fallfilmmikroreaktor durchgeführt. Der STACK-1x-FFMR-LAB-V2 Fallfilmmikroreaktor wurde am Institut für Mikrotechnik Mainz entwickelt und gefertigt und ist erhältlich bei micro4industries GmbH, Deutschland.

Zur Evaluierung unterschiedlicher Reaktionsparameter auf den THF Gehalt im Eluat wurde die Flussrate des THF-Wasser-Gemischs mittels einer Postnova PN 1610 Spritzenpumpe variiert (1 mL/min, 2 mL/min, 4 mL/min). Die Temperatur der Heizflüssigkeit wurde mit dem Wärmethermostat LAUDA ECO E 4 auf verschiedene Temperaturen unterhalb des Siedepunkts von THF (65,81 °C) eingestellt (55 °C, 60 °C und 65 °C) und durch einen zirkulierenden Wasserkreislauf konstant gehalten.

Die Flussrate des Stickstoffgases wurde schrittweise von 0 mL/min bis zu 1000 mL/min über einen Gasflussregler eingestellt. Der Gasstrom wurde im Gegenstrom zur Flussrichtung des THF-Wasser-Gemischs angelegt. Sowohl die Gasphase als auch die flüssige Phase wurden nicht vorgewärmt, sondern gelangten mit Raumtemperatur (22 °C) in den Reaktor. Das Eluat verließ den Reaktor durch einen am Ausgang befestigten Schlauch und wurde gesammelt.

Die Quantifizierung des Restgehalts an THF im Eluat erfolgte mit hoher Präzision (Fehler < 0,1 %) durch Dichtmessungen mit einem Mettler Toledo DE45 Biegeschwinger.

Die effektive Verdampfungsrate von Wasser und THF wurde über die Flussratendifferenz am Ein- und Ausgang des Reaktors ermittelt.

Dazu wurde über einen definierten Zeitraum das Eluat in einem Messzylinder gesammelt und mit einer Kern ABJ 320-4NM Waage die Masse des ELuats bestimmt.

Für eine schematische Darstellung des Aufbaus der Anlage zum Betrieb des FFMRs siehe Abbildung 52, Kapitel 4.1.3.

Durchführung der Kalibrierung zur Dichtebestimmung

Zur Kalibrierung wurde eine Verdünnungsreihe für THF in Wasser aufgestellt. Dafür wurden Gemische mit folgendem Volumenanteil an THF hergestellt: 100 %, 75 %, 50 %, 25 %, 10 %, 5 %, 2,5 %, 1 %, 0,5 %, 0,25 %, 0,1 %, 0,05 % und 0,01 %.

Um den Fehler möglichst gering zu halten, wurden die Anteile an THF und Wasser über deren Literaturdichte berechnet und bei 20 °C eingewogen. Der Fehler der Waage (KERN ABJ 320-4NM) beträgt $\pm 0,1$ mg, dies entspricht einem maximalen Fehler von weniger als einem Prozent bei der geringsten Verdünnung.

Die Dichtemessungen wurden mit einem Mettler Toledo DE45 Biegeschwinger in der auf 25 °C temperierten Messzelle durchgeführt und jeweils dreimal wiederholt. Die Auswertung erfolgte in Origin über ein Anfitten der Messdaten mit einem Polynom 2.Grades (vergleiche Abbildung 54, Kapitel 4.1.3).

6.3.2 Kontinuierliche Darstellung von mit Eisenoxid-Nanopartikeln beladenen Polymersomen aus Pluronic® L121 mit separatem kontinuierlichen Abdampfen von THF über den Fallfilmmikroreaktor

Eine Lösung von Pluronic® L121 in THF mit einer Konzentration von 10 g/L wurde im Reservoir vorgelegt. Die hydrophoben Eisenoxid-Nanopartikel wurden ohne weitere vorherige Aufreinigung zu der Polymerlösung zugegeben und die Menge so gewählt, dass die Konzentration 25 % in Bezug auf die Polymerkonzentration betrug. In einem zweiten Reservoir befand sich Reinstwasser als selektives Lösungsmittel.

Aus jedem Reservoir wurde mit jeweils einer HPLC-Pumpe (Knauer AZURA P 4.1S) das Wasser bzw. die Polymer-Eisenoxid-Lösung hin in den Raupenmischer (Modell CPMM-V1.2-R300) gepumpt. Das Mischverhältnis betrug in Anlehnung an die Arbeiten von Raphael Thiermann^[116] und Regina Bleul^[120] 1,5 : 10 mit absoluten Flussraten von 1,5 mL/min für die Polymerlösung und 10 mL/min für das Wasser.

Da der Trübungspunkt von Pluronic® L121 bei 14 °C für eine 1%ige wässrige Lösung^[222] liegt, wurden sowohl die Vorratsflaschen mit der Polymer-Eisenoxid-Lösung und dem Wasser sowie der Raupenmischer in ein auf 22 °C temperiertes Wasserbad gestellt, um bei konstanter und reproduzierbarer Temperatur zu arbeiten und einen Abfall der Löslichkeit der Polymere bzw. einen Phasenübergang auszuschließen.

Die hergestellten Vesikel wurden in einem Vorratsgefäß gesammelt und von dort aus – um das THF abzdampfen – mit einer Postnova PN 1610 Spritzenpumpe über einen STACK-1x-FFMR-LAB-V2^[198] Fallfilmmikroreaktor gepumpt.

Mit Hilfe des Wärmethermostats LAUDA ECO E 4 wurde der Fallfilmmikroreaktor auf 60 °C temperiert.

Die Flussrate des Stickstoffgases wurde auf 650 mL/min über einen Gasflussregel eingestellt und im Gegenstrom zur Flussrichtung der Partikeldispersion angelegt. Sowohl die Gasphase als auch die flüssige Phase wurden nicht vorgewärmt, sondern gelangten mit Raumtemperatur (22 °C) in den Reaktor. Das Eluat verließ den Reaktor durch einen am Ausgang befestigten Schlauch und wurde in einer Schraubdeckelflasche gesammelt. Konnte bei einer Geruchsprobe noch THF festgestellt werden, wurde es erneut bei gleichen Parametern (Flussrate, Temperatur, Stickstoffgegenstrom) erneut über den Fallfilmmikroreaktor gepumpt und erneut in einer separaten Schraubdeckelflasche aufgefangen.

Als Referenz wurde jeweils noch ein Probengefäß zum Abdampfen bei Raumtemperatur stehen gelassen wurde, bis in der Probe kein THF mehr vorhanden war (Geruchskontrolle/ olfaktorischer Test). Die Geruchsschwelle von THF liegt bei 2 – 7,4 ppm.^[240]

Die beiden Versuche (Abdampfen im Batch und semikontinuierliches Abdampfen) wurden jeweils dreimal wiederholt.

Die Versuchsdurchführung ist schematisch in Abbildung 64, Kapitel 0 dargestellt.

Die Partikelgröße wurde mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® ohne weitere Verdünnung bei einem Winkel von 180° charakterisiert.

Eine Visualisierung der Vesikel erfolgte durch Transmissionselektronenmikroskopie mit dem Zeiss EM 902 bei 80 kV.

Die Quantifizierung des Restgehalts an THF im Eluat erfolgte über Dichtemessungen mit einem Mettler Toledo DE45 Biegeschwinger. Dazu wurde die Probe bei 20.000 rpm (engl.: *revolutions per minute*, dt. Umdrehungen pro Minute) für 30 min zentrifugiert um ein Abtrennen der Vesikel zu erreichen und anschließend die Dichte des Überstandes gemessen.

6.3.3 Herstellung im Batch, semikontinuierlich und kontinuierlich von PLGA Nanopartikeln durch Nanopräzipitation

Das Darstellungsprinzip der Nanopartikel aus PLGA (Poly(D,L-lactid-co-glycolid)) (Resomer® RG 752 H, $M_w = 4.000-15.000$ g/mol Lactid zu Glycolid-Verhältnis = 75:25, Sigma-Aldrich) basiert auf der Methode der Nanopräzipitation.

Herstellung im Batch:

Bei der Batchherstellung von PLGA-Nanopartikeln wurde in einem Gefäß eine 3 wt% wässrige SDS-Lösung (Natriumdodecylsulfat) bei Raumtemperatur mit 500 rpm gerührt. Dazu wurde dann in verschiedenen Mischverhältnissen (1:3, 1:5 und 1:7 organische zur wässrigen Phase) die organische Phase zugegeben. In der organischen Phase lag PLGA in unterschiedlichen Konzentrationen in THF gelöst vor (0,25 wt%, 1 wt%, 2 wt% und 3 wt%). Bei der Zugabe trübte sich das Gemisch sofort.

Um das THF abzdampfen, wurden die Proben für 3 h bei 40 °C und 500 rpm auf eine temperierbare Schüttelplatte (DITABIS HLC Heiz-Thermomixer MHR 23) gestellt.

Semi-kontinuierliche Herstellung:

Bei der (semi-) kontinuierlichen Herstellung von PLGA-Nanopartikeln wurde das kontinuierliche Mischen einer PLGA-Lösung mit Wasser durch einen Mikromischer (SIMM V2) umgesetzt.

Als Tensid wurde SDS mit 3 Gewichtsprozent (wt%) in Wasser, dem Antisolvent für die Nanopräzipitation von PLGA, gelöst und in einem Vorratsreservoir vorgelegt. In dem zweiten Reservoir befand sich in THF gelöstes PLGA in unterschiedlichen Konzentrationen (0,25 wt%, 1 wt%, 2 wt% und 3 wt%).

Mit Hilfe von zwei HPLC-Pumpen (Knauer AZURA P 4.1S) wurde eine Gesamtflussrate von 4 mL/min eingestellt. Dabei wurden Mischverhältnisse von 1:3 (1 mL/min: 3 mL/min), 1:5 (0,65 mL/min: 3,35 mL/min) und 1:7 (0,5 mL/min: 3,5 mL/min) von der organischen zur wässrigen Phase eingestellt.

Zum Abdampfen des THFs wurden die Proben nach dem Mischer gesammelt und für 3 h bei 40 °C und 500 rpm auf einer temperierbaren Schüttelplatte (DITABIS HLC Heiz-Thermomixer MHR 23) gerührt.

Kontinuierliche Herstellung:

Bei der kontinuierlichen Herstellung erfolgte das Abdampfen des THFs kontinuierlich im direkten Anschluss an den Mischer über einen Fallfilmmikroreaktor (STACK-1x-FFMR-LAB-V2). Dieser wurde auf 65 °C temperiert und mit einem Stickstoffgegenstrom von 650 mL/min betrieben. Nach Durchlaufen des FFMRs war der olfaktorische Nachweis von THF in der Probe negativ.

Eine schematische Darstellung des Versuchsaufbaus befindet sich in Kapitel 4.3.2, Abbildung 68.

Die Größenbestimmung der hergestellten Partikel erfolgte mit Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180° und es wurden zudem von einigen Proben TEM-Bilder aufgenommen.

Dazu wurde für die getrockneten Proben ein mit flüssigem Stickstoff gekühlter Halter verwendet, damit ein Degradieren der Partikel durch Kettenspaltung der Polymere vermieden werden konnte.^[346,347] Die TEM-Aufnahmen wurden freundlicherweise von Raphael Thiermann durchgeführt.

6.3.4 Darstellung von Polystyrol-Nanopartikel durch die Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik und Evaluierung des entwickelten Versuchsaufbaus durch Variation unterschiedlicher Parameter

Die Herstellung der Partikel basierte auf einer Kombination der Miniemulsionstechnik mit der Lösungsmittelverdampfungsmethode, der sogenannten Emulsions-Lösungsmittel-verdampfungstechnik.

Das jeweilige Polymer wurde mit einer definierten Konzentration in Chloroform gelöst und fungierte als disperse Phase (O). Die kontinuierliche Phase (W) bestand aus entionisiertem Reinstwasser mit einem definierten Anteil des anionischen Tensids SDS (engl. *Sodium dodecyl sulfate*, dt. *Natriumdodecylsulfat*).

Beide Phasen wurden nicht vorgewärmt, sondern bei einer Raumtemperatur von 22 °C von jeweils einer HPLC Pumpe (AZURA P 4.1S, Knauer, Berlin, Deutschland, mit 10 mL/min Pumpenkopf aus Edelstahl) im ersten Prozessschritt durch einen statischen Mikromischer SIMM-V4 (Fraunhofer IMM, Mainz, Deutschland) (engl. *Slit interdigital micro mixer*, dt. *Schlitz-Interdigital-Mikromischer*) zur Erzeugung einer Präemulsion gepumpt.

In der Regel betrug das Mischverhältnis von disperser Phase zu kontinuierlicher Phase (O:W) 1:4. Dies entspricht bei einer Gesamtflussrate von 4.10 mL/min einer Flussrate von 0.82 mL/min für die disperse (O) und 3.28 mL/min für die kontinuierliche Phase (W).

Im zweiten Prozessschritt erfolgte durch Energieeintrag eine Reorganisation und Homogenisierung der Tröpfchen in der Ultraschalldurchflussszelle (DMINI mit UIS250MFC Ultraschallprozessor, Hielscher, Berlin, Deutschland) und es entstand eine Miniemulsion.

Der Kühlwasserkreislauf hatte eine Wassertemperatur von 6 – 8 °C und wurde auf einen Druck von 6,5 – 7,0 bar eingestellt.

Im dritten und letzten Prozessschritt erfolgte im Fallfilmmikroreaktor (FFMR) (STACK-1x-FFMR-LAB-V2, Fraunhofer IMM, Mainz, Deutschland) ein kontinuierliches Abdampfen des organischen Lösungsmittel. Dazu wurde der Reaktor bei einer Temperatur von 60 °C betrieben. Der Stickstoffstrom betrug 650 mL/min und wurde im Gegenstrom zum flüssigen Strom angelegt.

Die Nanopartikeldispersion wurde am Ausgang des FFMRs in Schraubdeckelgläschen oder -flaschen gesammelt.

Um den Eintritt des Prozesses in die experimentell stabile Phase zu sichern, wurde erst 5 min nach Einstellung der jeweiligen Reaktionsparameter mit dem Sammeln einer Probe begonnen.

6.3.4.1 Einfluss bei der Verwendung eines T-Stücks bzw. eines Mikromischers zur Formulierung der Präemulsion sowie der Methodik zum Abdampfen des organischen Lösungsmittels (Batch oder Fallfilmmikroreaktor) auf die Größe der resultierenden Teilchen anhand von Polystyrol-Partikeln

In diesem Experiment wurde in der Hälfte der Versuche der Mikromischer des Standardversuchsaufbaus durch ein T-Stück ersetzt um die Qualität des Mischvorgangs und damit der Präemulsion zu ermitteln.

Außerdem war der Einfluss der Lösemittel-Abdampfmethodik (Batch oder Fallfilmmikroreaktor) auf die resultierende Partikelgröße und -qualität von Interesse. Das diskontinuierliche Abdampfen erfolgte unter Rühren (500 rpm) in einem Rundkolben mit Weithals über Nacht in einem temperierten Ölbad bei 40 °C.

Tabelle 31: Reaktionsparameter zur Untersuchung des Einflusses der Emulgier- sowie der Abdampfmethode auf die resultierende Partikelgröße

Probenname	PS-TUB	PS-TUK	PS-MUB	PS-MUK
Konz. Polystyrol [wt%]	2	2	2	2
M _w Polystyrol [g/mol]	192.000	192.000	192.000	192.000
Konz. SDS [g/L]	3	3	3	3
Mischverhältnis (O:W)	1:4	1:4	1:4	1:4
Gesamtflussrate [mL/min]	4,10	4,10	4,10	4,10
Flussrate (O) [mL/min]	0,82	0,82	0,82	0,82
Flussrate (W) [mL/min]	3,28	3,28	3,28	3,28
Emulgiermethode	T-Stück + Ultraschall	T-Stück + Ultraschall	Mikromischer + Ultraschall	Mikromischer + Ultraschall
Abdampfmethode	Batch	FFMR	Batch	FFMR

6.3.4.2 Einfluss der Molmasse (M_w) des Polymers auf die Partikelgröße anhand von Polystyrol-Partikeln

Um den Einfluss der Molmasse (M_w) auf die Partikelgröße zu untersuchen, wurde Polystyrol (3 wt% in Chloroform) mit drei unterschiedlichen Molmassen (M_w = 35.000 g/mol, M_w = 192.000 g/mol und M_w = 280.000 g/mol) unter ansonsten gleichen Reaktionsbedingungen verwendet wie in Kapitel 6.3.4.1, da sich diese Prozessparameter als die vielversprechendsten / mit dem vorliegenden Aufbau am breitesten anwendbar herausgestellt haben, siehe Tabelle 32.

Tabelle 32: Reaktionsparameter zur Untersuchung des Einflusses der Molmasse (M_w) auf die resultierende Partikelgröße

Probenname	PS-35k	PS-192k	PS-280k
Konz. Polystyrol [wt%]	3	3	3
M _w Polystyrol [g/mol]	35.000	192.000	280.000
Konz. SDS [g/L]	3	3	3
Mischverhältnis (O:W)	1:4	1:4	1:4
Gesamtflussrate [mL/min]	4,10	4,10	4,10
Flussrate (O) [mL/min]	0,82	0,82	0,82
Flussrate (W) [mL/min]	3,28	3,28	3,28

6.3.4.3 Einfluss der Tensidkonzentration an SDS auf die Partikelgröße von Polystyrol-Partikeln bei unterschiedlichen Polymerkonzentrationen

In diesem Experiment wurde die Konzentration an SDS in der kontinuierlichen Phase variiert (1,5 g/L, 3,0 g/L und 4,5 g/L), um deren Einfluss auf die Partikelgröße zu untersuchen. Zusätzlich wurden unterschiedliche Polymerkonzentrationen (5 g/L, 20 g/L, 30 g/L und 50g/L) an Polystyrol ($M_w = 192.000$ g/mol) eingestellt.

Tabelle 33: Reaktionsparameter zur Untersuchung des Einflusses der Tensid- sowie der Polymerkonzentration auf die resultierende Partikelgröße

M_w Polystyrol [g/mol]	192.000
Mischverhältnis (O:W)	1:4
Gesamtflussrate [mL/min]	4,10
Flussrate (O) [mL/min]	0,82
Flussrate (W) [mL/min]	3,28

6.3.4.4 Einfluss des Mischverhältnisses auf die Partikelgröße

Um den Einfluss des Mischverhältnisses auf die resultierende Partikelgröße zu untersuchen, wurde die disperse Phase (O) und die kontinuierliche Phase (W) sowohl im Verhältnis 1:4 als auch 1:8 gemischt und dabei jeweils noch die Konzentration (5 g/L, 20 g/L, 30 g/L und 50g/L) des Polystyrol ($M_w = 192.000$ g/mol) in Chloroform variiert.

Es wurde darauf geachtet, dass die Gesamtflussrate jeweils 4.10 mL/min betrug; dies entspricht für das Mischungsverhältnis von 1:4 (O:W) Flussraten von 0,82 mL/min (O) und 3,28 mL/min (W) und für das Mischungsverhältnis von 1:8 (O:W) Flussraten von 0,46 mL/min (O) und 3,64 mL/min (W).

Tabelle 34: Reaktionsparameter zur Untersuchung des Einflusses des Mischverhältnisses bei unterschiedlichen Polymerkonzentrationen auf die resultierende Partikelgröße

Probenname	PS-0.5-M-1.4	PS-2-M-1.4	PS-3-M-1.4	PS-5-M-1.4	PS-0.5-M-1.8	PS-2-M-1.8	PS-3-M-1.8	PS-5-M-1.8
Konz. Polystyrol [wt%]	0,5	2	3	5	0,5	2	3	5
M _w Polystyrol [g/mol]	192.000	192.000	192.000	192.000	192.000	192.000	192.000	192.000
Konz. SDS [g/L]	3	3	3	3	3	3	3	3
Mischverhältnis (O:W)	1:4	1:4	1:4	1:4	1:8	1:8	1:8	1:8
Gesamtflussrate [mL/min]	4,10	4,10	4,10	4,10	4,10	4,10	4,10	4,10
Flussrate (O) [mL/min]	0,82	0,82	0,82	0,82	0,46	0,46	0,46	0,46
Flussrate (W) [mL/min]	3,28	3,28	3,28	3,28	3,64	3,64	3,64	3,64

6.3.5 Kontinuierliche Herstellung von Hybridpartikeln

Im Folgenden werden die Details zur kontinuierlichen Herstellung von Janus-Partikeln aus Polystyrol und Poly-L-Lactid (Kapitel 4.5.1), zur Verkapselung superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikel in einer kolloidalen Polystyrolmatrix (Kapitel) und zur Verkapselung des Farbstoffes Nilrot in Polystyrol- bzw. Poly(Lactid-co-Glycolid) (PLGA) ausführlich beschrieben.

6.3.5.1 Kontinuierliche Herstellung von Janus-Partikeln aus Polystyrol und Poly-L-Lactid

Das Darstellungsprinzip der Janus-Partikel bestehend aus Polystyrol ($M_w = 192.000$ g/mol) und Poly-L-Lactid ($M_w = 145.000$ g/mol) beruht auf der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik.

Eine schematische Darstellung der kontinuierlichen Versuchsanlage findet sich in 4.5.1.2, Abbildung 88.

Für die Herstellung der organischen Phase (O) wurden definierte Mengen (siehe Tabelle 35) beider Polymere in Chloroform gelöst, sodass die Gesamtpolymerkonzentration jeweils 30 g/L betrug. Der Anteil an Polystyrol an der Gesamtpolymermenge betrug in den einzelnen Experimenten zwischen 0 % und 100 % (0 %, 20 %, 35 %, 50 %, 65 %, 80 % und 100 %).

Die kontinuierliche Phase (W) bestand aus entionisiertem Reinstwasser mit einem 3 wt% des anionischen Tensids SDS (engl. *Sodium dodecyl sulfate*, dt. *Natriumdodecylsulfat*).

Keine der Phasen wurde vorgewärmt, sondern bei einer Raumtemperatur von 22 °C von jeweils einer HPLC Pumpe (AZURA P 4.1S, Knauer, Berlin, Deutschland, mit 10 mL/min Pumpenkopf aus Edelstahl) im ersten Prozessschritt durch einen statischen Mikromischer SIMM-V4 (Fraunhofer IMM, Mainz, Deutschland) (engl. *Slit interdigital micro mixer*, dt. *Schlitz-Interdigital-Mikromischer*) zur Erzeugung einer Präemulsion gepumpt.

Das Mischverhältnis von disperser Phase zu kontinuierlicher Phase (O:W) betrug bei jedem Versuch 1:4. Dies entspricht bei einer Gesamtflussrate von 4.10 mL/min, einer Flussrate von 0.82 mL/min für die disperse (O) und 3.28 mL/min für die kontinuierliche Phase (W).

Im zweiten Prozessschritt erfolgte die Herstellung einer Miniemulsion durch Reorganisation und Homogenisierung der Tröpfchen mittels Energieeintrag in der Ultraschalldurchflusszelle (DMINI mit UIS250MFC Ultraschallprozessor, Hielscher, Berlin, Deutschland).

Der Kühlwasserkreislauf hatte eine Wassertemperatur von 6 – 8 °C und wurde bei einem Druck von 6,5 – 7,0 bar betrieben.

Im dritten und letzten Prozessschritt erfolgte im Fallfilmmikroreaktor (FFMR) (STACK-1x-FFMR-LAB-V2, Fraunhofer IMM, Mainz, Deutschland) ein kontinuierliches Abdampfen des organischen Lösungsmittel. Dazu wurde der Reaktor bei einer Temperatur von 60 °C betrieben. Der Stickstoffstrom betrug 650 mL/min und wurde im Gegenstrom zum flüssigen Strom angelegt.

Die Nanopartikeldispersion wurde am Ausgang des FFMRs in Schraubdeckelgläschen oder -flaschen gesammelt.

Um eine Stabilisierung des Prozesses zu erreichen, wurde mit dem Sammeln einer Probe erst 5 min nach Einstellung der jeweiligen Reaktionsparameter begonnen.

In Tabelle 35 werden alle Reaktionsparameter und die Angaben zu den verwendeten Mengen der jeweiligen Polymere sowie des Tensids zusammengefasst.

Tabelle 35: Zusammenstellung der Reaktionsparameter zur Herstellung von Janus-Partikeln mit unterschiedlichen Anteilen an Polystyrol und Poly-L-Lactid.

Probenname	PS-0.5-M-1.4	PS-2-M-1.4	PS-3-M-1.4	PS-5-M-1.4	PS-0.5-M-1.8	PS-2-M-1.8	PS-3-M-1.8
Konz. Polystyrol [wt%]	3,0	2,4	1,95	1,5	1,05	0,6	0
M _w Polystyrol [g/mol]	192.000	192.000	192.000	192.000	192.000	192.000	192.000
Konz. Poly-L-Lactid [wt%]	0	0,6	1,05	1,5	1,95	2,4	3,0
M _w Poly-L-Lactid [g/mol]	145.000	145.000	145.000	145.000	145.000	145.000	145.000
Konz. SDS [g/L]	3	3	3	3	3	3	3
Mischverhältnis (O:W)	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4
Gesamtflussrate [mL/min]	4,10	4,10	4,10	4,10	4,10	4,10	4,10
Flussrate (O) [mL/min]	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
Flussrate (W) [mL/min]	3,28	3,28	3,28	3,28	3,28	3,28	3,28

6.3.5.2 Verkapselung superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikel in einer kolloidalen Polystyrolmatrix

Das Darstellungsprinzip der Hybridpartikel aus Polystyrol ($M_w = 192.000$ g/mol) und Magnetit beruht auf der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik.

Zur Herstellung von Hybridpartikeln aus Polystyrol und Magnetit wurde ein Ferrofluid (Webcraft GmbH, Gottmadingen, Germany) aus Ölsäure-stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikeln ohne weitere Aufreinigung verwendet.

Kontinuierliche Herstellung:

Für die Herstellung der organischen Phase (O) wurde Polystyrol ($M_w = 192.000$ g/mol) in Chloroform gelöst, sodass die Polymerkonzentration nach Zugabe einer definierten Menge an Ferrofluid (Webcraft GmbH, Gottmadingen, Deutschland) (siehe Tabelle 36) 30 g/L betrug. Die zugegebenen Mengen an Ferrofluid betrugen 3 g/L, 6 g/L, 9 g/L, 12 g/L, 15 g/L, 18 g/L, 24 g/L und 30 g/L.

Die kontinuierliche Phase (W) bestand aus entionisiertem Reinstwasser mit einem 3 wt% des anionischen Tensids SDS (engl. *Sodium dodecyl sulfate*, dt. *Natriumdodecylsulfat*).

Keine der Phasen wurde vorgewärmt, sondern bei einer Raumtemperatur von 22 °C von jeweils einer HPLC Pumpe (AZURA P 4.1S, Knauer, Berlin, Deutschland, mit 10 mL/min Pumpenkopf aus Edelstahl) im ersten Prozessschritt durch einen statischen Mikromischer SIMM-V4 (Fraunhofer IMM, Mainz, Deutschland) (engl. *Slit interdigital micro mixer*, dt. *Schlitz-Interdigital-Mikromischer*) zur Erzeugung einer Präemulsion gepumpt.

Das Mischverhältnis von disperser Phase zu kontinuierlicher Phase (O:W) betrug bei jedem Versuch 1:4. Dies entspricht bei einer Gesamtflussrate von 4.10 mL/min, einer Flussrate von 0.82 mL/min für die disperse (O) und 3.28 mL/min für die kontinuierliche Phase (W).

Im zweiten Prozessschritt erfolgte die Herstellung einer Miniemulsion durch Reorganisation und Homogenisierung der Tröpfchen mittels Energieeintrag in der Ultraschalldurchflusszelle (DMINI mit UIS250MFC Ultraschallprozessor, Hielscher, Berlin, Deutschland).

Der Kühlwasserkreislauf hatte eine Wassertemperatur von 6 – 8 °C und wurde bei einem Druck von 6,5 – 7,0 bar betrieben.

Im dritten und letzten Prozessschritt erfolgte im Fallfilmmikroreaktor (FFMR) (STACK-1x-FFMR-LAB-V2, Fraunhofer IMM, Mainz, Deutschland) ein kontinuierliches Abdampfen des organischen Lösungsmittels. Dazu wurde der Reaktor bei einer Temperatur von 60 °C betrieben. Der Stickstoffstrom betrug 650 mL/min und wurde im Gegenstrom zum flüssigen Strom angelegt.

Die Nanopartikeldispersion wurde am Ausgang des FFMRs in Schraubdeckelgläschen oder –flaschen gesammelt.

Um eine Stabilisierung des Prozesses zu erreichen, wurde mit dem Sammeln einer Probe erst 5 min nach Einstellung der jeweiligen Reaktionsparameter begonnen.

In Tabelle 36 werden alle Reaktionsparameter und die Angaben zu den verwendeten Mengen der jeweilige Polymere sowie des Tensids zusammengefasst.

Tabelle 36: Reaktionsparameter zur Herstellung von Hybridpartikeln aus Polystyrol und Magnetit mit einem Massenanteil an Magnetit von 0 -100 % im Verhältnis zu Polystyrol.

Probenname	PS-FeO-0	PS-FeO-10	PS-FeO-20	PS-FeO-30	PS-FeO-40	PS-FeO-50	PS-FeO-60
Konz. Polystyrol [wt%]	3	3	3	3	3	3	3
M _w Polystyrol [g/mol]	192.000	192.000	192.000	192.000	192.000	192.000	192.000
Konz. Magnetit [wt%]	0	0,3	0,6	0,9	1,2	1,5	1,8
Magnetit : Polystyrol [wt%]	0	10	20	30	40	50	60
Konz. SDS [g/L]	3	3	3	3	3	3	3
Mischverhältnis (O:W)	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4
Gesamtflussrate [mL/min]	4,10	4,10	4,10	4,10	4,10	4,10	4,10
Flussrate (O) [mL/min]	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
Flussrate (W) [mL/min]	3,28	3,28	3,28	3,28	3,28	3,28	3,28

Probenname	PS-FeO-80	PS-FeO-100
Konz. Polystyrol [wt%]	3	3
M _w Polystyrol [g/mol]	192.000	192.000
Konz. Magnetit [wt%]	2,4	3,0
Ratio Magnetit : Polystyrol [wt%]	80	100
Konz. SDS [g/L]	3	3
Mischverhältnis (O:W)	1:4	1:4
Gesamtflussrate [mL/min]	4,10	4,10
Flussrate (O) [mL/min]	0,82	0,82
Flussrate (W) [mL/min]	3,28	3,28

Herstellung im Batch:

Bei der vergleichenden Batchherstellung von Hybridpartikeln aus Polystyrol ($M_w = 192.000 \text{ g/mol}$) und Magnetit wurde in einem Gefäß eine 3 wt% wässrige SDS-Lösung (Natriumdodecylsulfat) und bei Raumtemperatur mit 500 rpm vorgelegt.

Zur Darstellung der organischen Phase (O) wurde Polystyrol ($M_w = 192.000 \text{ g/mol}$) in Chloroform gelöst, sodass die Polymerkonzentration nach Zugabe einer definierten Menge an Ferrofluid (Webcraft GmbH, Gottmadingen, Deutschland) (siehe Tabelle 36) 30 g/L betrug. Die zugegebenen Mengen an Ferrofluid betrugen 3 g/L, 6 g/L, 9 g/L, 12 g/L, 15 g/L, 18 g/L, 24 g/L und 30 g/L.

Die wässrige Phase und die organische Phase wurden im Verhältnis 4:1 gemischt, sodass sich stets ein Gesamtvolumen von 20 mL ergab. Dies wurde dann unter Eiskühlung mit einem ULTRA-TURRAX® (IKA®-Werke GmbH & Co. KG Staufen, Deutschland) für 2 min bei 15.000 rpm vordispersiert.

Die so erhaltene Präemulsion wurde unter Eiskühlung für 180 s (20 s Beschallung, 10 s Pause) mit 70 % Amplitude durch Ultraschall mit einem Branson 450 W Sonifier mit einer ¼"-Spitze zerkleinert und homogenisiert. Die erhaltene Miniemulsion wurde über Nacht bei 40 °C und 500 rpm auf eine temperierbare Schüttelplatte (DITABIS HLC Heiz-Thermomixer MHR 23) gestellt, um das organische Lösungsmittel vollständig zu entfernen.

6.3.5.3 Verkapselung von Nilrot in Polystyrol- bzw. Poly(Lactid-co-Glycolid)

Das Darstellungsprinzip der Hybridpartikeln aus Polystyrol ($M_w = 192.000 \text{ g/mol}$) bzw. PLGA (Poly(D,L-lactid-co-glycolid)) (Resomer® RG 752 H, $M_w = 4.000\text{-}15.000 \text{ g/mol}$, Lactid zu Glycolid-Verhältnis = 75:25, Sigma-Aldrich) und Nilrot (Fluka, Buchs, Schweiz) beruht auf der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik.

Kontinuierliche Herstellung:

Für die Herstellung der organischen Phase (O) wurde eine Lösung mit einer Konzentration von 30 g/L des jeweiligen Polymers zusammen mit Nilrot (30 mg/L) in Chloroform vorbereitet.

Die kontinuierliche Phase (W) bestand aus entionisiertem Reinstwasser mit einem 3 wt% Anteil des anionischen Tensids SDS (engl. *Sodium dodecyl sulfate*, dt. *Natriumdodecylsulfat*).

Keine der Phasen wurde vorgewärmt, sondern bei einer Raumtemperatur von 22 °C von jeweils einer HPLC Pumpe (AZURA P 4.1S, Knauer, Berlin, Deutschland, mit 10 mL/min Pumpenkopf aus Edelstahl) im ersten Prozessschritt durch einen statischen Mikromischer SIMM-V4 (Fraunhofer IMM, Mainz, Deutschland) (engl. *Slit interdigital micro mixer*, dt. *Schlitz-Interdigital-Mikromischer*) zur Erzeugung einer Präemulsion gepumpt.

Das Mischverhältnis von disperser Phase zu kontinuierlicher Phase (O:W) betrug bei jedem Versuch 1:4. Dies entspricht bei einer Gesamtflussrate von 4.10 mL/min, einer Flussrate von 0.82 mL/min für die disperse (O) und 3.28 mL/min für die kontinuierliche Phase (W).

Im zweiten Prozessschritt erfolgte die Herstellung einer Miniemulsion durch Reorganisation und Homogenisierung der Tröpfchen mittels Energieeintrag in der Ultraschalldurchflusszelle (DMINI mit UIS250MFC Ultraschallprozessor, Hielscher, Berlin, Deutschland).

Der Kühlwasserkreislauf hatte eine Wassertemperatur von 6 – 8 °C und wurde bei einem Druck von 6,5 – 7,0 bar betrieben.

Im dritten und letzten Prozessschritt erfolgte im Fallfilmmikroreaktor (FFMR) (STACK-1x-FFMR-LAB-V2, Fraunhofer IMM, Mainz, Deutschland) ein kontinuierliches Abdampfen des organischen Lösungsmittels. Dazu wurde der Reaktor bei einer Temperatur von 60 °C betrieben. Der Stickstoffstrom betrug 650 mL/min und wurde im Gegenstrom zum flüssigen Strom angelegt.

Die Nanopartikeldispersion wurde am Ausgang des FFMRs in Schraubdeckelgläschen oder -flaschen gesammelt.

Um eine Stabilisierung des Prozesses zu erreichen, wurde mit dem Sammeln einer Probe erst 5 min nach Einstellung der jeweiligen Reaktionsparameter begonnen.

Herstellung im Batch:

Zur Darstellung der organischen Phase (O) wurde eine Lösung mit einer Konzentration von 30 g/L des jeweiligen Polymers zusammen mit Nilrot (30 mg/L) in Chloroform vorbereitet. Die kontinuierliche Phase (W) bestand aus entionisiertem Reinstwasser mit einem 3 wt% des anionischen Tensids SDS (engl. *Sodium dodecyl sulfate*, dt. *Natriumdodecylsulfat*).

Die wässrige Phase und die organische Phase wurden im Verhältnis 4:1 gemischt, sodass sich stets ein Gesamtvolumen von 20 mL ergab. Zur Erzeugung einer Makroemulsion wurden beide Phasen mit einem Magnetrührer für 60 min schnell gerührt.

Die so erhaltene Präemulsion wurde unter Eiskühlung für 180 s (20 s Beschallung, 10 s Pause) mit 70 % Amplitude durch Ultraschall mit einem Branson 450 W Sonifier mit einer ¼"-Spitze zerkleinert und homogenisiert.

Die erhaltene Miniemulsion wurde in einen 50 mL Weithalsrundkolben umgefüllt und über Nacht für 18 h bei 40 °C im Ölbad gerührt, um das organische Lösungsmittel komplett zu entfernen.

Freisetzungsversuch:

Es wurde 1 mL der kontinuierlich hergestellten Probe (PLGA) mit 1 mL Chloroform versetzt und für 3 min bei 2400 rpm/min mit einem Vortexer kräftig durchmischt. Die so erhaltene Präemulsion wurde analog zur Herstellung im Batch unter Eiskühlung für 180 s (20 s Beschallung, 10 s Pause) mit 70 % Amplitude durch Ultraschall mit einem Branson 450 W Sonifier mit einer ¼" Spitze zerkleinert und homogenisiert. Die erhaltene Miniemulsion wurde aufgrund der geringen Probenmenge für 3 Stunden bei 40 °C und 500 rpm auf eine temperierbare Schüttelplatte (DITABIS HLC Heiz-Thermomixer MHR 23) gestellt, um das organische Lösungsmittel vollständig zu entfernen.

6.3.6 Partikel-Aufnahme in die humane Glioblastom-Zelllinie U-251 MG

Im Folgenden werden alle Versuchsparameter zur Darstellung der magnetischen, fluoreszierenden PLGA-Nanopartikel, die Zellkultivierung und die Aufnahme der Partikel in Glioblastomzellen dargestellt. Anschließend wird die Analyse der Zellen mittels fluoreszenzbasierter Durchflusszytometrie und konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie sowie die massenspektrometrische Analyse der Proteincorona der Partikel beschrieben.

6.3.6.1 Darstellung magnetischer, fluoreszierender PLGA-Nanopartikel

Das Darstellungsprinzip der mit PMI (N-(2,6-diisopropylphenyl)-perylene-3,4-dicarbonacidimide) fluoreszenzmarkierten Hybridpartikel aus Poly(Lactid-co-Glycolid) und Magnetit beruht auf der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik.

Zur Darstellung der organischen Phase (O) wurde eine Lösung mit einer Konzentration von 30 g/L des Polymers PLGA (Poly(Lactid-co-Glycolid)) ((Resomer® RG 752 H, Mw = 4.000-15.000 g/mol Lactid zu Glycolid-Verhältnis = 75:25, Sigma-Aldrich) zusammen mit 24 mg/L des Fluoreszenzfarbstoffs PMI (N-(2,6-diisopropylphenyl)-perylene-3,4-dicarbonacidimide, BASF, Deutschland) in Chloroform vorbereitet. Bei der zweiten dargestellten Probe wurde darüber hinaus noch 6 g/L ($\cong$ 20 wt%) eines Ferrofluids (Webcraft GmbH, Gottmadingen, Germany) in die Polymerlösung eingewogen. Die kontinuierliche Phase (W) bestand aus entionisiertem Reinstwasser mit einem 3 wt% des anionischen Tensids SDS (engl. Sodium dodecyl sulfate, dt. Natriumdodecylsulfat).

Die wässrige Phase und die organische Phase wurden im Verhältnis 8:1 gemischt, so dass sich stets ein Gesamtvolumen von 20 mL ergab. Zur Erzeugung einer Makroemulsion wurden beide Phasen unter Eiskühlung mit einem ULTRA-TURRAX® für 2 min bei 15.000 rpm dispergiert.

Die so erhaltene Präemulsion wurde unter Eiskühlung für 180 s (20 s Beschallung, 10 s Pause) mit 70 % Amplitude durch Ultraschall mit einem Branson 450 W Sonifier mit einer ¼"-Spitze zerkleinert und homogenisiert. Die erhaltene Miniemulsion wurde über Nacht bei 40 °C und 500 rpm auf eine temperierbare Schüttelplatte (DITABIS HLC Heiz-Thermomixer MHR 23) gestellt, um das organische Lösungsmittel vollständig zu entfernen.

Abschließend wurde die Partikeldisperion für 2 Tage gegen Reinstwasser dialysiert. Das Wasser wurde dreimal pro Tag ausgetauscht.

Die Partikelkonzentration wurde gravimetrisch nach Abdampfen des Lösungsmittels im Vakuum bei 40 °C bestimmt, bevor die Proben für weitere Versuche an Helen Onyema weitergegeben wurden.

6.3.6.2 Zellkultur^[428]

Die Zellkultur wurde von Helen Onyema betreut.

Die Kultivierung der Glioblastomzellen der Zelllinie U-251 MG wurde in DMEM-Medium mit 10% FCS und 1% Pen/ Strep bei 37 °C und 5% CO₂ unter sterilen Bedingungen durchgeführt.

Zweimal pro Woche wurde die Lebendzellzahl mit einer Neubauer Zählkammer bestimmt. Durch Zugabe von Trypanblau zur Diskriminierung der lebenden und toten Zellen wurden die toten Zellen spezifisch angefärbt.

Alle verwendeten Medien, Puffer und Enzyme wurden vor Beginn der Zellpassage im Wasserbad auf 37 °C temperiert. Zuerst wurden die Zellen mit 5 mL PBS gewaschen. Das Ablösen der adhären Zellen erfolgte durch Zugabe von 1 mL Accutase und zweiminütiger Inkubation bei 37 °C und 5% CO₂. Gestoppt wurde die Reaktion durch Zugabe von 5 mL vorgewärmtem DMEM-Medium.

Die Accutase wurde mit 400 g für 5 Minuten zentrifugiert und anschließend mit dem Überstand entfernt. Das sedimentierte Zellpellet wurde in frischem Medium resuspendiert und mit einer Zelldichte von 800.000 Zellen pro 25 cm²-Zellkulturflasche ausgesät.^[428]

6.3.6.3 Nanopartikel-Aufnahme der Glioblastomzellen^[428]

Die Versuche zur Partikelaufnahme in Glioblastomzellen wurden von Helen Onyema durchgeführt.

In diesem Experiment wurde die Aufnahme der magnetischen mit SDS stabilisierten PLGA-Nanopartikeln (PLGA-FeO-SDS) in humane Glioblastomzellen der Zelllinie U-251 unter Einfluss eines Magnetfeldes (MagnetoFACTOR-24 plate, Chemicell GmbH, Berlin) analysiert. Im Vergleich dazu wurde die Aufnahme von den PLGA-Partikeln mit verkapselten Eisenoxid-Nanopartikeln und von PLGA-Partikeln ohne verkapseltem Eisenoxid (PLGA-SDS) ohne Einfluss eines Magnetfeldes durchgeführt.

Alle verwendeten Medien, Puffer und Enzyme wurden auf 37 °C im Wasserbad vortemperiert. Die Zellen wurden für die Experimente zur Partikelaufnahme mit einer Konzentration von ca. 100.000 Zellen in 1 mL DMEM-Medium pro *well* mit einer Fläche von 1,9 cm² ausgesät. Zur Adhäsion wurde über Nacht bei 37 °C und 5% CO₂ inkubiert. Bevor am darauffolgenden Tag die Partikel zu den Zellen hinzugegeben wurden, erfolgte ein Wechsel des Mediums.

Die Aufnahme der Nanopartikel wurde mit einer Partikelkonzentration von 150 µg/mL für 0,5 Stunden, 1 Stunde, 3 Stunden und 6 Stunden bei 37 °C und 5% CO₂ untersucht. Zusätzlich wurden als Negativkontrolle (NK7) Zellen ohne Zugabe von Partikeln kultiviert. Bei allen nachfolgenden Schritten wurden zur Analyse der Partikelaufnahme Medium und PBS jeweils in 5 mL-Reaktionsgefäßen aufgefangen. Zuerst wurde das Medium abgenommen und die Zellen mit 1 mL PBS gewaschen. Das Lösen der adhären Zellen erfolgte durch Zugabe von 1 mL Accutase bei 37 °C und 5% CO₂ für 2 Minuten. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 1 mL DMEM-Medium gestoppt. Nach Zentrifugation bei 400 g für 5 Minuten wurde durch Abnehmen des Überstandes die Accutase entfernt. Anschließend wurde das entstandene Zellpellet dann in 300 µL DMEM-Medium resuspendiert.^[428]

6.3.6.4 Analyse der Zellen mittels fluoreszenzbasierter Durchflusszytometrie^[428]

Die Messungen zur Partikelaufnahme und Zellviabilität mittels fluoreszenzbasierter Durchflusszytometrie wurden von Helen Onyema durchgeführt.

Sowohl die Partikelaufnahme als auch die Zellviabilität wurden mit Hilfe von fluoreszenzbasierter Durchflusszytometrie untersucht. Zunächst erfolgte dafür eine Anregung der Zellen mit einem Laser bei einer Wellenlänge von 488 nm.

Dabei wurde mit dem Kanal FL1 (Filter 533/30 nm) die Fluoreszenzintensität des Fluoreszenzfarbstoffes Perylenmonoimid (PMI) der von den Zellen aufgenommenen Partikel bestimmt. Mit Hilfe von *gates* können Bereiche, welche nicht in die Analysen miteinbezogen werden sollen, ausgegrenzt werden. Hierzu zählen Bereiche, in denen sich z.B. eine erhöhte Anzahl an bereits zerfallenen oder toten Zellen befindet. Bei dieser Analyse wurden 10.000 *events* aus dem *gate* aufgenommen. Dabei entspricht ein *event* einer Zelle. Da Nanopartikel von sterbenden und bereits toten Zellen unspezifisch gebunden werden, wurden bei der Auswertung nur lebende Zellen „*gategat*“.

Die anschließende Analyse der Messergebnisse erfolgte mit der BD Accuri C6 Software. Bei der statistischen Auswertung der Partikelaufnahme wurde der Median aller Messergebnisse des Kanals FL1 verwendet.

Es fand eine Normierung der Messergebnisse des Medians statt, da nicht davon ausgegangen werden konnte, dass tatsächlich jeder Partikel eine identische Anzahl an Fluoreszenzfarbstoffen beinhaltet. Dazu wurde die Fluoreszenzintensität der jeweiligen Partikel dreifach spektrometrisch gemessen. Anschließend wurde mit Hilfe der Formel (94) die Normierung der Fluoreszenzintensität für die Partikelaufnahme durchgeführt:

$$\text{Normierung } FL1_{NP} = \frac{\text{Mittelwert}_{NP \text{ mit höchster Fluoreszenzintensität}}}{\text{Mittelwert}_{NP}} \cdot \text{Median } FL1_{NP}. \quad (95)$$

Gleichzeitig erfolgte eine Quantifizierung der Zellviabilität. Hierfür wurde der rote Viabilitätsfarbstoff 7-Actinoaminomycin (7-AAD) verwendet. Dieser kann nur die Zellmembran von toten bzw. sterbenden Zellen mit poröser Zellmembran durchdringen. Dabei lagert sich der Farbstoff zwischen den Basen Cytosin und Guanin der DNA ein, sodass die Färbung ausschließlich in toten bzw. sterbenden Zellen erfolgt. ^[511]

Dafür wurden zu jeder Probe 5 µL 7-AAD hinzugegeben und für 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die Fluoreszenzintensität konnte mit Hilfe des Kanals FL3 (Filter 670 nm *long pass*) bestimmt werden. ^[428]

6.3.6.5 Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM) ^[428]

Die Untersuchungen am CLSM zur Verifizierung der Nanopartikel-Aufnahme wurden am Forschungszentrum für Immuntherapie in Mainz ebenfalls von Helen Onyema durchgeführt.

Zur Analyse der Zellen mittels CLSM wurden pro Fach eines Kammerdeckgläschen 30.000 Zellen ausgesät. Damit eine Adhäsion der Zellen erfolgte, wurden sie über Nacht bei 37 °C und 5% CO₂ inkubiert.

Danach wurden die Zellen für 20 Stunden mit 150 µg/mL Nanopartikeln inkubiert. Anschließend wurde das Medium verworfen und 300 µL frisches DMEM-Medium dazugegeben. Zur Färbung der Zellkerne wurden die Zellen mit 1,62 mM Höchst 33342 für 30 Minuten bei 37 °C und 5% CO₂ inkubiert. Der Färbvorgang wurde durch Verwerfen des Mediums und zweimaliges Spülen mit 300 µL PBS gestoppt und nicht aufgenommene Nanopartikel wurden entfernt. Dann wurden erneut 300 µL frisches DMEM-Medium hinzugegeben.

Zur Färbung der Zellmembran wurde direkt vor den Untersuchungen am CLSM 0,5 mg/mL Cell Mask™ orange zugegeben bzw. zur Färbung der Lysosomen 0,01 mM LysoTracker® Deep Red.

Die verwendeten Fluorochrome sind mit der jeweils emittierten Farbe, der Anregungs- und Emissionswellenlänge sowie dem angefärbten Zellbestandteil in Tabelle 37 aufgelistet.^[428]

Tabelle 37: Übersicht der verwendeten Farbstoffe und Fluorochrome.^[428]

Farbstoff	Anregung [nm]	Emission [nm]	Emittierende Farbe	Angefärbter Zellbestandteil
Höchst 33342	350	461	blau	Zellkern
Cell Mask™ orange	554	657	rot	Zellmembran
Lysotracker® Deep Red	647	668	rot	Lysosomen
Perylenmonoimid (PMI)	488	530	grün	Nanopartikel

6.3.6.6 Massenspektrometrische Analyse der Proteincorona der Nanopartikel^[428]

Die massenspektrometrischen Messungen und Analysen wurden vom Institut für molekulare Biologie gGmbH (IMB) in Mainz durchgeführt.

Für eine Identifizierung der Proteine, welche an einer Passage der Nanopartikel über die BHS beteiligt sein könnten, wurden massenspektrometrische Analysen durchgeführt.

Die Inkubation der Partikel mit Blutplasma erfolgte in einem Verhältnis von 0,1 m² Partikeloberfläche in 150 µL Nanopartikel-Lösung zu 500 µL Blutplasma. Dies wurde mit folgender Gleichung (96) berechnet:

$$\text{Oberfläche von 100 ml NP} = \frac{6}{\rho \cdot d} \cdot \text{Feststoffgehalt des NP}. \quad (96)$$

In den Kontrollen wurde statt des Plasmas der PBS Puffer verwendet. Die Proben wurden für 60 Minuten bei 37 °C und 500 U/min auf einem Heiz-ThermoMixer inkubiert.

Die Reaktion wurde durch Auffüllen auf 1 mL Gesamtvolumen mit PBS und anschließendem *Vortexen* gestoppt. Nicht adsorbiertes Protein aus dem Plasma wurde durch viermaliges Zentrifugieren mit 20.000 g bei 4 °C für 30 Minuten abgetrennt. Abschließend wurde das Pellet in 10 µL PBS resuspendiert und bis zum Transport ans IMB bei -80 °C gelagert. Der Transport fand auf Trockeneis und mit Kühllakkus statt.^[428]

6.3.6.7 Übersichtstabellen der verwendeten Geräte, Softwares, Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Medien für die Zellkultivierung

Tabelle 38: Übersicht der verwendeten Geräte.^[428]

Gerät	Name des Gerätes	Hersteller
CO ₂ -Inkubator	HERAcell 150i	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA
Durchflusszytometer	BD Accuri™ C6 Flow cytometer	Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, USA
Fluoreszenz- und Phasenkontrastmikroskop	CKX41	Olympus K.K., Shinjuku, Japan
Konfokales Laser-Scanning-Mikroskop (CLSM)	710 NLO	Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland
Magnetplatte	MagnetoFACTOR-24 plate	Chemicell GmbH, Berlin
Mikroplatten-Photometer	Victor™ X3	PerkinElmer Inc., Waltham, USA
Neubauer Zählkammer	Neubauer-improved	Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Lauda-Königshofen, Deutschland
Pipette (10, 20, 100, 200, 1250 µl)	Eppendorf Research®	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Pipettierhilfe	accu-jet® pro	Brand GmbH + CO KG, Wertheim, Deutschland
Sicherheitswerkbank	SAFE 2020	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA
<i>Vortexer</i>	Reax control	Heidolph Instruments GmbH & Co.KG, Schwabach, Deutschland
<i>Vortexer</i>	TopMix FB15024	Fisher Scientific GmbH, Schwarte, Deutschland
Wasserbad	WNB7	Memmert GmbH + Co.KG, Schwabach, Deutschland
Zentrifuge (groß)	Heraeus MULTIFUGE 3s	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA

Tabelle 39: Übersicht der verwendeten Softwares.^[428]

Name der Software	Hersteller
BD Accuri™ C6 Software	Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, USA
Victor™ Software Version 3.00 release 2	PerkinElmer Inc., Waltham, USA

Tabelle 40: Übersicht der verwendeten Verbrauchsmaterialien.^[428]

Verbrauchsmaterial	Hersteller
Falcons (15, 50 ml)	VWR, Radnor USA Sarstedt AG & Co, Nürnberg, Deutschland
Kammerdeckgläschen (8 Kammern)	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA
Magnetplatte (für 24er well-Platten)	Chemicell, Berlin, Deutschland
Pipettenspitzen (10, 20, 100, 200, 1250 µl)	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland Sarstedt AG & Co, Nürnberg, Deutschland
Reaktionsgefäße (1,5, 5 ml)	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
serologische Pipetten (5, 10, 25, 50 ml)	VWR, Radnor, USA Sarstedt AG & Co, Nürnberg, Deutschland
well-Platten (24er)	Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österreich
Zellkulturflaschen (25 cm ²)	Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österreich

Tabelle 41: Übersicht über verwendete Reagenzien.^[428]

Reagenzien	Hersteller
7-Aminoactinomycin (7-AAD)	Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, USA
Accutase	Capricorn Scientific GmbH, Ebsdorfergrund, Deutschland
Cell Mask™ orange	Life technologies, Carlsbad, USA
Dulbecco's modified eagle medium (DMEM)	Lonza Group AG, Basel, Schweiz
Dulbecco's phosphate buffered saline (PBS)	Gibco by life technologies, Carlsbad, USA
Fetales Kälberserum (FCS)	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
Höchst 33342	Life technologies, Carlsbad, USA
Humanes Blutplasma	Isoliert aus 10-20 gesunden Blutspenden, vermengt, hitzeinaktiviert und steril filtriert
Lysotracker® Deep Red	Life technologies, Carlsbad, USA
Penicillin/ Streptomycin (Pen/ Strep)	Gibco by Life technologies, Carlsbad, USA
Trypanblau	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA

Tabelle 42: Übersicht der eingesetzten Medien für die Zellkultivierung.^[428]

Medium	Zusatz
DMEM (für U-251MG)	10% FCS, 1% Pen/ Strep

7 ANHANG

7.1 Abkürzungsverzeichnis

A	7-AAD	Viabilitätsfarbstoff 7-Actinoaminomycin
	AJ	engl. <i>adherent junction</i> , dt. Adhäsionsverbindungen
	ANOVA	engl. <i>analysis of variance</i> , dt. Varianzanalyse
	ATR	engl. <i>attenuated total reflection</i> , dt. abgeschwächte Totalreflexion
B	BHS	Blut-Hirn-Schranke
C	°C	Grad Celsius
	CCC	engl. <i>critical coagulation concentration</i> , dt. kritische Koagulationskonzentration
	CLSM	engl. <i>confocal laser scanning microscopy</i> , dt. konfokalen Laser-Scanning-Mikroskopie
	CMC	engl. <i>critical micelle concentration</i> , dt. Mizellbildungskonzentration
	CPMM	engl. <i>caterpillar micro mixer</i> , dt. Raupenmischer
D	DC-FCCS	engl. <i>dual-color fluorescence cross-correlation spectroscopy</i> , dt. Zwei-Farben Korrelationsspektroskopie
	DLS	engl. <i>dynamic light scattering</i> , dt. dynamische Lichtstreuung
	DLVO-Theorie	Theorie nach B. W. Derjaguin, L. D. Landau, E. J. W. Verwey und J. T. G. Overbeek
	DMF	Dimethylformamid
	DMSO	Dimethylsulfoxid
	DNA	engl. <i>deoxyribonucleic acid</i> , dt. DNS = Desoxyribonukleinsäure
	dt.	Deutsch
E	e.g.	lat. <i>exempli gratia</i> , dt. zum Beispiel
	engl.	Englisch
	EPR-Effekt	engl. <i>enhanced permeability and retention</i> , dt. erhöhte Permeabilität und Retention
	etc.	lat. <i>et cetera</i> , dt. und so weiter
	EZ	Kapillarenendothelzellen
F	FACS	engl. <i>fluorescence-activated cell sorting</i> , dt. fluoreszenzbasierten Durchflusszytometrie
	FDA	engl. <i>Food and Drug Administration</i> , dt. Lebensmittelbehörde
	Fe ₃ O ₄	Eisen(II,III)-oxid = Magnetit
	frz.	Französisch
	FRET	Förster-Resonanzenergietransfer

G	GUV	engl. <i>giant unilamellar vesicles</i> , dt. sehr große unilamellare Vesikel im Mikrometermaßstab
H	h	engl. <i>hour</i> , dt. Stunde
	HLB	engl. <i>hydrophilic-lipophilic balance</i> , dt. Grad der lipophilen bzw. hydrophilen Eigenschaften einer Substanz
	HPLC	engl. <i>high performance liquid chromatography</i> , dt. Hochleistungsflüssigkeits-chromatographie
I	IMB	Institut für molekulare Biologie gGmbH, Mainz
	IR	Infrarot
	IUPAC	engl. <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> , dt. Internationale Union für reine und angewandte Chemie
J		
K	kg	Kilogramm
L	lat.	Latein
	LCST	engl. <i>lower critical solution temperature</i> , dt. untere kritische Lösungstemperatur
M	MALDI-TOF	Kombination der Matrix-Assistierte Laser-Desorption-Ionisierung (MALDI) mit der Flugzeitanalyse (engl. <i>time of flight</i> = TOF) freigesetzter Ionen zur Massenspektrometrie
	min	Minute
	mL	Milliliter
	Mrd.	Milliarden
	MRT	Magnetresonanztomographie
N	NA	Numerische Apertur
	NaBH ₄	Natriumborhydrid
	NP	Nanopartikel
	NRTL-Modell	engl. Non-Random-Two-Liquid-Modell, dt. „nicht-zufällig, zwei Flüssigkeiten“-Modell, ein thermodynamisches Modell: Korrelation der Aktivitätskoeffizienten eines chemischen Stoffgemischs
	NTU	engl. <i>number of transfer units</i> , dt. Zahl der Übertragungseinheiten
O	O/W	Öl in Wasser-Emulsion
	O/W/O	Öl in Wasser in Öl-Doppelemulsion

P	Pa	Pascal ($1Pa = 1 \frac{N}{m^2} = 1 \frac{kg}{m \cdot s^2}$)
	PAH	Poly(Allylaminhydrochlorid)
	PBCA	Poly(butylcyanoacrylat)
	PB-PEO	Polybutadien- <i>block</i> -Polyethylenoxid
	PCL	Polycaprolacton
	PDADMAC	Poly(Diallyldimethylammoniumchlorid)
	PEEK	Polyetheretherketon
	PEG	Polyethylenglycol
	PEO	Polyethylenoxid
	PHBV	Poly(3-Hydroxybutyrate-co-Hydroxyvalerate)
	PLGA	Poly(D,L-lactid-co-glycolid)
	PLLA	Poly(L-Lactid)
	PMMA	Polymethylmethacrylat
	PMI	Perylenmonoimid dicarbonacidimide
		=N-(2,6-diisopropylphenyl)-perylene-3,4-
Q	PPO	Polypropylenoxid
	PS	Polystyrol
R	rpm	engl. <i>revolutions per minute</i> , dt. Umdrehungen pro Minute
S	SAR	engl. <i>split and recombine</i> , dt. aufspalten und wiedervereinen
	SCENIHR	engl. <i>Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks</i> , dt. von der europäischen Kommission unabhängigen wissenschaftlichen Ausschusses "Neu auftretende und neu identifizierte Gesundheitsrisiken"
	SDS	engl. <i>sodium dodecyl sulfate</i> , dt. <i>Natriumdodecylsulfat</i>
	SIMM	engl. <i>slit interdigital micro mixer</i> , dt. <i>Schlitz-Interdigital-Mikromischer</i>
	SLS	Statische Lichtstreuung
	SPIO	engl. superparamagnetic iron oxides, dt. super-paramagnetische Eisenoxide
T	TEER	transendothelialer elektrischer Widerstand
	TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
	THF	Tetrahydrofuran
	TICT	engl. <i>twisted intramolecular charge transfer</i> , dt. gedrehter intramolekularer Ladungstransfer
	TJ	engl. <i>tight junctions</i> , dt. dichte Verbindung, lat. <i>Zonula occludens</i>
U	usw.	und so weiter
	UV/VIS	UV = ultraviolettes Licht, VIS = engl. <i>visible</i> , dt. sichtbares Lichts
V	Vol%	Volumenprozent

W	W/O	Wasser in Öl-Emulsion
	W/O/W	Wasser in Öl in Wasser-Doppelemulsion
	wt%	engl. weight percent, dt. Gewichtsprozent
X		
Y		
Z	z.B.	zum Beispiel
	ZNS	Zentrales Nervensystem
	ZORA	engl. <i>zeroth-order regular approximation</i> , dt. regelmäßige Näherung nullter Ordnung

7.2 Symbolverzeichnis

Das Symbolverzeichnis ist untergliedert in die Kapitel, in denen Symbole in Formeln verwendet werden.

7.2.1 Theorie und Grundlagen (Kapitel 2)

7.2.1.1 Elektrostatische Abstoßung (Kapitel 2.2.1.1)

- c_i : Ionenkonzentration
- e : Eulersche Zahl
- R : ideale Gaskonstante
- T : absolute Temperatur
- z_i : Wertigkeit der Ionen
- ε_0 : elektrische Feldkonstante
- ε_r : relative Dielektrizitätskonstante des Dispergiermittels
- κ^{-1} : Abklingrate = Debye – Hückel – Länge
- $\Psi(x)$: elektrisches Potential
- $z_i F \Psi(x)$: elektrostatische Anziehungsenergie

7.2.1.2 Van-der-Waals Anziehung (Kapitel 2.2.1.2)

- A : Hamaker – Konstante
- A_{131} : Wechselwirkung kolloidaler Teilchen in einem Medium
- A_{11} : Wechselwirkung zweier Teilchen miteinander
- A_{33} : Wechselwirkung des Mediums mit sich selbst
- A_{13} : Wechselwirkung eines Teilchens mit dem Medium
- C : Interaktionskonstante
- q_1, q_2 : Anzahl der Atome bzw. Moleküle pro Volumeneinheit der beteiligten Stoffe
- R : Radius eines Kolloidteilchens
- r : Abstand der Zentren, der wechselwirkenden Teilchen
- $V_A(r)$: van – der – Waals Wechselwirkung zwischen zwei Kolloidteilchen

7.2.1.3 DLVO-Theorie (Kapitel 2.2.1.3)

$V_A(r)$: *van – der – Waals Wechselwirkung*

$V_B(r)$: *Bornsche Abstoßung*

$V_R(r)$: *Elektrostatische Abstoßung*

$V_T(r)$: *Gesamtwechselwirkung*

7.2.1.4 Grenzflächen- und Oberflächenspannung (Kapitel 2.2.2)

c : *Tensidkonzentration*

dA : *Vergrößerung der Oberfläche*

dW : *aufzuwendende Arbeit*

σ : *Grenz – oder Oberflächenspannung*

7.2.1.5 Tenside (Kapitel 2.2.3.1)

A : *Grenzfläche*

ΔG : *aufzuwendende Arbeit*

γ : *Grenzflächenspannung*

7.2.1.6 HLB-Wert (Kapitel 2.2.3.3)

H_h : *Wert der hydrophilen Gruppe*

H_l : *Wert der lipophilen Gruppe*

M : *Molmasse des gesamten Moleküls*

M_l : *Molmasse des lipophilen Anteils des Moleküls*

m : *Anzahl hydrophiler Gruppen im Molekül*

7.2.1.7 Alterungsprozesse (Kapitel 2.2.4)

- n : Anzahl der Moleküle der osmotisch aktiven Reagenz
 Δp : Nettokraft, die auf Grenzfläche der Tröpfchen wirkt
 p_{Laplace} : Laplace – Druck
 R : Gaskonstante
 r : Tröpfchenradius
 T : Temperatur
 t : Zeit
 Π : osmotischer Druck
 σ : Grenzflächenspannung

7.2.1.8 Dispergieren durch Extrusion an mikroporösen Membranen (Kapitel 2.2.5.3)

- d_p : Durchmesser der zylindrischen Pore
 $d_{p,\text{max}}$: maximaler Porendurchmesser
 J_W : Wasserflux durch die Membran
 K : Konstante, abhängig von der Porenstruktur
 l_p : Länge der zylindrischen Pore
 p_K : Kapillardruck
 Δp_{tm} : hydraulischer Widerstand = transmembrane Druckdifferenz
 R_m : hydraulischer Widerstand
 γ : Grenzflächenspannung
 δ : Randwinkel der Flüssigkeit
 δ_m : Dicke der Membran
 ε : Porosität
 η_W : Viskosität des Wassers
 ξ : mittlere Tortuositätsfaktor der Membranporen
 v_W : mittlere Geschwindigkeit des Wassers in den Poren

7.2.1.9 Grundlagen des Magnetismus (Kapitel 2.4.3)

- B : magnetische Flussdichte oder Induktion
 B_{innen} : innere magnetische Flussdichte
 $B_{\text{außen}}$: äußere magnetische Flussdichte
 H : Magnetfeldstärke
 J : magnetische Polarisierung
 M : Magnetisierung
 V : Volumen
 μ_0 : Permeabilität im Vakuum
 μ_{mag} : magnetisches Moment
 χ : Suszeptibilität

7.2.1.10 Superparamagnetismus (Kapitel 2.4.4)

- K : Anisotropiekonstante des Materials (Anisotropieenergie $A_E = KV_C$)
 k_B : Boltzmann Konstante
 T : absolute Temperatur
 V_C : Volumen des magnetischen Kerns
 V_h : hydrodynamisches Volumen
 η : dynamische Viskosität des Mediums
 τ_B : Brown'sche Relaxationszeit
 τ_N : Néel'sche Relaxationszeit
 τ_{eff} : effektive Zeitkonstante

7.2.2 Charakterisierungsmethoden (Kapitel 3)

7.2.2.1 Statische Lichtstreuung (Kapitel 3.1.1)

- A_2, A_3 : 2. bzw. 3. Virialkoeffizient des osmotischen Drucks
 c : Konzentration der Probe
 I_0, I : Intensität des Primärstrahls, Intensität des Streustrahls
 M : Molekulargewicht der gelösten Probe
 M_0 : Molmasse des Lösungsmittels
 N : Anzahl der Streuwinkel
 N_L : Avogadro – Konstante
 n, n_0 : Brechungsindex der Lösung, Brechungsindex des Lösungsmittels
 $\left(\frac{dn}{d\rho}\right)$: Brechungsindexinkrement nach der Dichte
 $\left(\frac{dn}{dc}\right)$: Brechungsindexinkrement nach der Konzentration
 $P_{(q)}$: Partikelformfaktor
 q : Streuvektor
 R : ideale Gaskonstante
 $\langle R_g^2 \rangle$: Trägheitsradienquadrat
 $R(\theta)$: Rayleigh – Verhältnis
 r : Abstand des Streuvolumens zum Detektor
 r_{ij} : Abstandsvektor der Streuzentren i und j
 T : absolute Temperatur
 V : Größe des Streuvolumens
 β : isotherme Kompressibilität
 θ : Streuwinkel
 λ_0 : Wellenlänge des Primärstrahls
 $\Delta\mu$: Differenz der chemischen Potentiale von Lösung zu Lösungsmittel
 Π : osmotischer Druck
 ρ, ρ_0 : Dichte der Lösung, Dichte des Lösungsmittels

7.2.2.2 Dynamische Lichtstreuung (Kapitel 3.1.2)

- A : *experimentell bestimmte Basislinie*
 B : *Signal – Rausch – Verhältnis*
 C : *dimensionslose Größe, abhängig von der Molekülstruktur*
 D : *translatorischer Diffusionskoeffizient*
 D_{app} : *scheinbarere, apparenter Diffusionskoeffizient*
 D_i : *translatorischer Diffusionskoeffizient der Teilchensorte i*
 D_z : *z – Mittel des Diffusionskoeffizienten*
 $I(0)$: *Streuamplitude zum Zeitpunkt 0*
 $I(t)$: *Streuamplitude zum Zeitpunkt t*
 k : *Boltzmann – Konstante $\triangleq 1,38 \cdot 10^{-23} \frac{J}{K}$*
 $k_d = 2A_2 - k_f - v_p$
 M_i : *Molmasse der Teilchensorte i*
 m_i : *Massenanteil der Teilchensorte i*
 t : *Zeitabstände der Kanäle des Autokorrelators*
 $S(q, t)$: *dynamischer Strukturfaktor*
 $S(q)$: *statischer Strukturfaktor*
 Γ_i : *i – ter Kumulant*
 η_0 : *partiell Molvolumen des Polymers*
 σ_D : *Polydispersität der Verteilungsfunktion der Diffusionskoeffizienten*
 σ_R : *Polydispersität der Größe*
 v_p : *partiell Molvolumen des Polymers*
 $\langle \rangle$: *zeitliches Mittel*

7.2.2.3 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) (Kapitel 3.2)

- NA : *Numerische Aperatur des Objektivs*
 α : *Akzeptanzwinkel des Objektivs*
 δ : *erzielbare Auflösung*
 η : *Brechungsindex des Immersionsmediums*
 λ : *Wellenlänge des verwendeten Lichts*

7.2.2.4 Dichtemessung mit Biegeschwinger (Kapitel 3.3)

i_d : *im Idealfall*
 $real$: *im Realfall*
 n : *Molmenge*
 m : *Masse*
 p : *Druck*
 T : *Temperatur*
 V : *Volumen*
 ϵ_{xy} : *zwischenmolekulare Wechselwirkung zwischen Molekül x und Molekül y*
 ρ : *Dichte*

7.2.2.5 Messprinzip des Biegeschwingers (Kapitel 3.3.1)

d : *relative Dichte einer Probe*
 F : *Zellfaktor*
 f : *Frequenz = Anzahl der Schwingungen pro Minute*
 K : *Messzellenkonstante*
 L : *Schwingungsperiode von Luft*
 m_c : *Masse der Messzelle*
 T : *Schwingungsperiode*
 V_c : *Volumen der Probe*
 W : *Schwingungsperiode von Wasser*
 ρ : *Dichte der Probe*
 ρ_0 : *Dichte einer Referenzsubstanz*
 ρ_P : *Dichte einer unbekannten Probe*

7.2.2.6 UV/VIS-Spektroskopie (Kapitel 3.4)

A : *Absorption durch ein isotropes, homogenes Medium*
 c : *Konzentration der Probe*
 d : *Schichtdicke der Küvette*
 I_0, I : *Intensität der Strahlung vor bzw. nach Durchgang durch die Probe*
 ϵ : *molarer, dekadischer Extinktionskoeffizient, stoffspezifische Konstante*

7.2.3 Ergebnisse und Diskussion (Kapitel 4)

7.2.3.1 Simulation des Massentransfers (Kapitel 4.1.4)

A_i	: Fläche der Flüssig – Gas – Grenzfläche
a	: Temperaturleitfähigkeit
c_p	: spezifische Wärmekapazität bei konstantem Druck
D	: Diffusionskoeffizient
F	: molare Flussrate
$ Fo$	: Fourier – Zahl
Gz	: Graetz Zahl
g	: Gas
k	: Stoffübergangszahl
K	: Komponente (Stickstoff, Tetrahydrofuran oder Wasser)
L	: charakteristische Länge
l	: liquid = Flüssigkeit
M	: Molmasse
N	: Molenfluss
p	: Druck
R	: universelle Gaskonstante
Re	: Reynolds Zahl
Sc	: Schmidt Zahl
Sh	: Sheerwood Zahl
s	: Stickstoff
t	: charakteristische Zeit
T	: Temperatur
t	: Tetrahydrofuran
VLE	: Dampf – Flüssigkeit – Gleichgewicht
x	: Molenbruch
y	: Molenbruch der Gasphase
w	: Wasser
λ	: Wärmeleitfähigkeit
μ	: dynamische Viskosität
ρ	: Dichte
ρ_m	: molare Dichte

7.2.3.2 Vergleich der experimentellen Daten mit der Simulation (Kapitel 4.1.6)

$corr$: Korrekturfaktor

NTU : Number of transfer units = Anzahl der Übertragungseinheiten

Q_L : Flüssigkeitsflussrate

7.2.3.3 Theoretische Betrachtung der experimentellen Ergebnisse (Kapitel 4.5.3.4)

D_{CHCl_3} : Diffusionskoeffizient von Chloroform $\left[\frac{m^2}{s} \right]$

$D_{NR,H_2O} = 4,27 \cdot 10^{-10} \frac{m^2}{s}$: Diffusionskoeffizient von Nilrot in Wasser

$k = 1,38 \cdot 10^{-23} \frac{J}{K}$: Boltzmann – Konstante

r : Radius

$r_{CHCl_3} = 0,145 \text{ nm} = 1,45 \cdot 10^{-10} \text{ m}$: Radius von Chloroform

r_{NR,H_2O} : Radius von Nilrot in Wasser

$T = 20 \text{ }^\circ\text{C} \triangleq 293,15 \text{ K}$: absolute Temperatur

V : Volumen

$\eta_{CHCl_3} = 0,56 \cdot 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$: dynamische Viskosität des Lösemittels^[427]

$\eta_{H_2O} = 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$: dynamische Viskosität des Lösemittels

7.2.3.4 Berechnung der Anzahl an Farbstoffmolekülen pro Polymerpartikel (Kapitel 4.5.3.5)

A_0 : Oberfläche einer Kugel

$M = 318,369 \frac{g}{mol}$: molare Masse

$m = 1,77 \cdot 10^{-18} \text{ g}$: Masse an Nilrot pro Partikel

n : Stoffmenge

r : Radius

V : Volumen

7.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die Nanotechnologie ist ein äußerst interdisziplinäres Forschungsgebiet basierend auf Chemie, Biologie und Physik (modifiziert nach ^[2]).	1
Abbildung 2: Graphischer Größenvergleich eines 4 nm großen Nanopartikels, welcher sich zu einem Fußball so verhält wie dieser zur Erde.	2
Abbildung 3: Der Begriff Nanomaterialien bezieht sich auf den Größenbereich zwischen 1 nm und wenigen hundert Nanometer und liegt damit zwischen der Größe eines einzelnen Atom und der einer Zelle.....	10
Abbildung 4: Schematische Darstellung wie sich bei gleichbleibendem Gesamtvolumen die Oberfläche vergrößert, wenn eine Zerlegung mit immer kleiner werdender Kantenlänge stattfindet.	11
Abbildung 5: Graphische Darstellung der beiden grundsätzlichen Ansätze zur Herstellung von Nanopartikeln. Bei der <i>Top Down</i> -Methode wird so lange ein Bulkmaterial so lange zerkleinert bis es die Größe von Nanopartikeln hat. Der <i>Bottom Up</i> -Ansatz verläuft genau entgegengerichtet; hierbei werden Atome, Cluster und Moleküle zu Nanopartikeln zusammengesetzt.....	12
Abbildung 6: Vergleich typischer Durchmesser kolloidaler Systeme (modifiziert nach ^[25]).....	15
Abbildung 7: Schematische Darstellung der verschiedenen Modelle der elektrischen Doppelschicht: Helmholtz-Doppelschicht (links), Gouy-Chapman Doppelschicht (Mitte) und Sternsche Doppelschicht (rechts).	20
Abbildung 8: Schematische Darstellung des Wechselwirkungspotentials V_T bei der Annäherung zweier Kolloide nach der DLVO-Theorie, welches sich aus der van-der-Waals Wechselwirkung V_A , der elektrostatischen Abstoßung V_R und der Bornschen Abstoßung V_B zusammensetzt.	23
Abbildung 9: Schematische Darstellung des Einflusses der Ionenstärke auf das Gesamtwechselwirkungspotential nach der DLVO-Theorie.	25
Abbildung 10: Hofmeister Reihe für Kationen und Anionen.....	26
Abbildung 11: Schematische Darstellung der Kräfte, die auf Moleküle im Wasser und an der Wasser/Luft-Grenzfläche einwirken (modifiziert nach ^[42]).	27
Abbildung 12: Schematische Darstellung der Änderung der Oberflächenspannung bei Zugabe unterschiedlicher Substanzen (modifiziert nach ^[51]).	28
Abbildung 13: Schematische Darstellung der Abhängigkeit der Oberflächenspannung σ vom Logarithmus der Tensidkonzentration c . Die Oberflächenspannung sinkt mit steigender Tensidkonzentration bis bei einem spezifischen Wert ein Plateau erreicht wird. Die Konzentration bei der dieses Plateau beginnt, wird als die kritische Mizellenbildungskonzentration (CMC, engl. critical micelle concentration) bezeichnet (modifiziert nach ^[42]).	29
Abbildung 14: Schematische Darstellung einiger physikalischer Eigenschaften (Trübung, osmotischer Druck, Oberflächenspannung und äquivalente Leitfähigkeit) und deren Verhaltung unterhalb und oberhalb der kritischen Mizellenbildungskonzentration (CMC, engl. <i>critical micelle concentration</i>) in Abhängigkeit von der Tensidkonzentration (modifiziert nach ^[53]).	30
Abbildung 15: Destabilisierungsmechanismen von Emulsionen (modifiziert nach ^[25]).	31

Abbildung 16: Zusammenstellung von Beispielen für nicht-ionische und ionische (anionische, kationische und zwitterionische) Tenside (modifiziert nach ^[41]).....	32
Abbildung 17: Schematische Darstellung der Koaleszenz und Ostwald-Reifung von Emulsionströpfchen. 41	
Abbildung 18: Verlauf der Gibb'schen Energie während der Koaleszenz zweier Emulsionströpfchen (modifiziert nach ^[90]).....	42
Abbildung 19: Schematische Darstellung der Unterdrückung der Ostwald-Reifung durch Zugabe eines osmotisch aktiven Reagenz (modifiziert nach ^[90]).....	44
Abbildung 20: Darstellung des Aufbaus und Funktionsprinzips eines Hochdruckhomogenisators (modifiziert nach ^[101]).....	46
Abbildung 21: Schematische Darstellung der a) Direktmembranemulgierung (DME) und der b) Premixmembranemulgierung (PME) (modifiziert nach ^[109]).....	50
Abbildung 22: Schematische Darstellung der Temperaturkontrolle im Vergleich eines Mikroreaktors mit einem konventionellen Batchsystem (modifiziert nach ^[115]).....	53
Abbildung 23: Schematische Darstellung unterschiedlicher passiver und aktiver Mischprinzipien von Mikromischern (modifiziert nach ^[13,112,119]). Die beiden in der Arbeit verwendeten Mischertypen sind in der Abbildung farbig markiert: Schlitz-Interdigitalmischer (●) und Raupenmischer (●).	56
Abbildung 24: Raupenmischer CPM-M-V1.2-R600/12. Foto des geschlossenen Mixers mit fluidischen Anschlüssen (links). ^[120] Mikroskopische Aufnahme der Mischstruktur mit den beiden Einlässen, den 12 Mischstufen und dem Auslass (Mitte). Mikroskopische Teilaufnahme der Mischstufen (rechts). ^[120]	57
Abbildung 25: Modell der Mischstruktur des Raupenmischers (links) und das theoretische Mischprofil nach dem SAR-Prinzip (engl.: <i>split and recombine</i> , dt.: Aufspalten und wiedervereinen) (rechts). ...	57
Abbildung 26: Funktionsprinzip des Schlitz-Interdigitalmischers: Zwei entgegen gerichtete Flüssigkeitsströme A und B werden aufgrund der Mikrostruktur des Mixers in eine definierte Anzahl an Lamellen aufgeteilt (interdigital). Bei Austreten durch den Schlitz im rechten Winkel zur Einströmrichtung werden die Lamellen alternierend zusammengeführt.	58
Abbildung 27: Fotos von zwei Modellen des Schlitz-Interdigitalmischers: a) SIMM-V2 und b) SIMM-V4, beide gefertigt am Fraunhofer IMM. Bei beiden Mixern sieht man Ober- und Unterteil des Gehäuses sowie das jeweilige mikrostrukturierte Inlay.	59
Abbildung 28: Einheitszelle von Magnetit (Fe_3O_4). Dabei symbolisieren ● dreiwertiges Eisen, ● zweiwertiges Eisen und ● Sauerstoff (modifiziert nach ^[28]).....	61
Abbildung 29: Einheitszelle von Hämatit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Dabei symbolisieren ● dreiwertiges Eisen und ● Sauerstoff (modifiziert nach ^[28]).....	62
Abbildung 30: Reaktionsgleichung für die Fällung von Eisen(II)- und Eisen(III)-Salzen in wässriger Lösung unter basischen Bedingungen.....	63
Abbildung 31: Schematische Darstellung verschiedener Spin-Orientierungen als Modelle für die Phänomene des kooperativen Magnetismus bei (a) para-, (b) ferro-, (c) antiferro- und (d) ferrimagnetischen Materialien (modifiziert nach ^[142]).....	66

- Abbildung 32: Schematische Darstellung magnetischer Domänen in a) ferromagnetischen und b) superparamagnetischen Nanopartikeln. a) Bei ferromagnetischen Materialien sind in Abwesenheit eines Magnetfeldes die magnetischen Ausrichtungen der einzelnen Weiss'schen Bereiche statistisch verteilt. b) Wird eine kritische Größe unterschritten – welche etwa in der Größenordnung der Weiss'schen Bereiche liegt – sind alle Elektronenspins innerhalb dieses Partikels einheitlich ausgerichtet und es liegen superparamagnetische Eindomänenpartikel vor (modifiziert nach ^[36,144,145]). 67
- Abbildung 33: Schematische Darstellung superparamagnetischer Partikel und ihres Verhaltens ohne und mit magnetischem Feld. a) Obwohl die magnetischen Momente innerhalb jedes einzelnen Partikels geordnet vorliegen ($\uparrow$), ist der magnetische Moment des Gesamtsystems, welches die Partikel enthält, Null bei ausreichend hohen Temperaturen in der Abwesenheit eines Magnetfeldes. b) Wird das System jedoch einem Magnetfeld ausgesetzt, kommt es zu einer statistischen Ausrichtung der magnetischen Momente der Partikel (modifiziert nach ^[146]). 67
- Abbildung 34: Schematische Darstellung der Übergänge bei ferromagnetischem und superparamagnetischem Verhalten in Abhängigkeit von der Partikelgröße (in Anlehnung an Cademartiri et al.^[147]). Ferro- und ferrimagnetische Materialien zeigen eine Hysterese-Kurve. Wenn ein Magnetfeld mit der Feldstärke H angelegt wird, kommt es zur Ausrichtung der Spins in den einzelnen Weiss'schen Bereichen. Mit zunehmender Feldstärke wächst die Magnetisierung M solange an bis eine maximale Spin-Ausrichtung sowie die Sättigungsmagnetisierung M_s erreicht ist. Wird anschließend die Feldstärke wieder verringert, bleibt eine remanente Magnetisierung M_R , da die Spins der Weiss'schen Bereiche nicht vollständig in ihre ursprüngliche Orientierung zurückkehren. Um dies zu erreichen ist es notwendig, ein Feld H_C (Koerzitivfeldstärke) in umgekehrter Richtung anzulegen und so wieder eine vollständige Entmagnetisierung zu erreichen. Superparamagnetisches Verhalten tritt ein, wenn diese ferro- oder ferrimagnetischen Materialien Partikelgrößen haben, die kleiner sind als die eines einzelnen Weiss'schen Bereichs. Das Besondere an der superparamagnetischen Magnetisierungskurve ist, dass es keine Hysterese gibt und somit keine remanente Magnetisierung M_R und auch keine Koerzitivfeldstärke H_C . Wird allerdings die Blocking-Temperatur T_B unterschritten, kehrt das ferro- bzw. ferrimagnetische Verhalten des Materials zurück.^[120] 68
- Abbildung 35: Abhängigkeit der Zeitkonstanten τ von dem Partikelradius r für Magnetit-Nanopartikel (modifiziert nach ^[149]). 70
- Abbildung 36: Schematische Darstellung einer Lichtstreuapparat. 74
- Abbildung 37: Zimm-Plot: • symbolisieren die gemessenen Daten aus einem Lichtstreu-Experiment, ■ extrapolierte Werte für $c \rightarrow 0$ bzw. $q \rightarrow 0$. Der gemeinsame Schnittpunkt im y-Achsenabschnitt ergibt $1/M_w$. Aus den Steigungen der Geraden lassen sich A_2 und $\langle R_g^2 \rangle_z$ ermitteln. 80
- Abbildung 38: Fluktuierende Streuintensität $I(t)$ und Autokorrelationsfunktion $g_2(t)$ (modifiziert nach ^[160]). 81
- Abbildung 39: a) Schematische Darstellung des Strahlengangs eines Transmissionselektronenmikroskops.^[162] b) Vergleich des schematischen Aufbaus eines Transmissionselektronenmikroskops (links) mit einem klassischen Lichtmikroskop (rechts).^[163] 86
- Abbildung 40: Graphische Darstellung einer Schwingungsperiode.^[166] 89

Abbildung 41: Graphische Bestimmung der unbekannten Dichte einer Probe ρ_p bei 20 °C nach Kalibrierung mit Wasser und Luft (modifiziert nach ^[166]).....	91
Abbildung 42: Aufbau der Messzelle des Biegeschwingers (modifiziert nach ^[166]).....	92
Abbildung 43: Stabilitätskriterien für Ende der Schwingungsmessung und anschließende Extrapolation der Steigung anhand eines patentierten Algorithmus zur Berechnung der Dichte. ^[166]	93
Abbildung 44: Jablonski-Diagramm mit farblicher Markierung der Absorption (-), Fluoreszenz (-, Stokes-Linie) und Phosphoreszenz (-) sowie den strahlungslosen Prozessen (-). ^[167]	95
Abbildung 45: Schematische Darstellungen von Apparaturen zur Fluoreszenzspektroskopie (modifiziert nach ^[169]).	96
Abbildung 46: Funktionsprinzip eines Durchflusszytometers. ^[170] Die Zellen der Zellsuspension werden durch hydrodynamische Fokussierung mittels einer Hüllflüssigkeit in einzelnen Tröpfchen vereinzelt. Beim Durchqueren der Messzelle werden sowohl das Streulicht als auch die Fluoreszenz detektiert. Mit Hilfe einer Ladungselektrode und einer Ablenkplatte können anschließend die Zellen entsprechend ihrer Markierung und Eigenschaften in Echtzeit sortiert und getrennt gesammelt werden.	98
Abbildung 47: Schematischer Aufbau eines konfokalen Laser-Scanning-Mikroskops. ^[170]	100
Abbildung 48: In der Literatur beschriebene Funktionsprinzipien von Trennverfahren, die auf Mikrostripping und Mikroabsorption beruhen (modifiziert nach ^[177]).....	105
Abbildung 49: Schematische Darstellung der mikrostrukturierten Platte des Fallfilmmikroreaktors.	107
Abbildung 50: STACK-1x-FFMR-LAB-V2 mit danebenliegendem Isoliergehäuse aus PEEK.....	107
Abbildung 51: Schematische Darstellung des Funktionsprinzips eines Fallfilmmikroreaktors beim Verdampfen.	107
Abbildung 52: Aufbau des Fallfilmmikroreaktors zum kontinuierlichen Verdampfen.	109
Abbildung 53: Dichtemessgerät Mettler Toledo D45 mit Probenzufuhr und Reinigungseinheit SC1.	110
Abbildung 54: Kalibrierung anhand von Dichtemessungen zur Bestimmung des THF-Gehalts von THF-Wasser-Gemischen mit definierten THF-Gehalt, Messung bei 25 °C, Anpassung mit $y = a + bx + cx^2$ mit $a = 0,99974$, $b = -2,21053 \cdot 10^{-4}$ und $c = -9,23885 \cdot 10^{-6}$	110
Abbildung 55: Molenbruch der Gasphase von THF und Wasser an der Flüssigkeit-Gas-Grenzfläche.	114
Abbildung 56: Flüssiger Volumenanteil an THF (Abbildungen links) und Volumenstrom des Eluats (Abbildungen rechts) jeweils in Abhängigkeit vom Volumenstrom des Stickstoffs bei eingehenden Volumenströmen von etwa 1 mL/min, 2 mL/min und 4 mL/min Wasser mit 33 Vol% THF und Temperaturen von 55 °C, 60 °C und 65 °C. Die experimentellen Daten sind mit Symbole (◆,▲,●) gekennzeichnet, die berechneten Daten sind als durchgezogene Linien in der, dem jeweiligen Volumenstrom entsprechenden Farbe eingezeichnet.....	117
Abbildung 57: Korrekturfaktor ($\text{corr} = 0,27891 \cdot Q_L[\text{mL/min}] + 0,15264$) in Abhängigkeit der Flüssigkeitsvolumenstroms.....	122
Abbildung 58: Anzahl der Übertragungseinheiten in Abhängigkeit vom Volumenstrom des Stickstoffs und der eingehenden Flüssigkeitsflussrate von ca. 1 mL/min, 2 mL/min und 4 mL/min bei Temperaturen von 55 °C, 60 °C und 65 °C.	123

Abbildung 59: Strukturformel von Pluronic® L121 mit farblicher Kennzeichnung der hydrophilen Poly(ethylenoxid)-Blöcke (PEO) in Blau und des hydrophoben Poly(propylenoxid)-Blocks in Rot. ^[120]	126
Abbildung 60: Schematische Darstellung eines Blockcopolymers und der daraus aufgebauten Struktur eines Polymersoms und einem Querschnitt zur Verdeutlichung der Struktur. ^[120]	127
Abbildung 61: Schematische Darstellung der Struktur eines Liposoms. ^[120]	127
Abbildung 62: Schematisch Darstellung des Prozesses der Filmrehydration. ^[120]	128
Abbildung 63: Schematisch Darstellung der Co-Lösungsmittelmethode. ^[120]	128
Abbildung 64: Fließschema zur kontinuierlichen Darstellung von Pluronic® L121-Nanopartikeln beladenen mit hydrophoben, magnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln über Nanopräzipitation und kontinuierlichem Abdampfen des THFs mittels des Fallfilmmikroreaktors.	132
Abbildung 65: Cryo-TEM Bilder von Pluronic® L121-Polymersomen mit verkapselten magnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln, bei denen nach der kontinuierlichen Herstellung das THF im Batch (<i>oben</i>) bzw. semikontinuierlich mit Hilfe eines Fallfilmmikroreaktors (<i>unten</i>) abgedampft wurde.	137
Abbildung 66: Der STACK-1x-FFMR-LAB (A) ist die Laborversion mit 1/10 an Durchsatz des STACK-1x-FFMR-LARGE (B), von dem es auch noch eine hochskalierte Version mit 10-fachem Umsatz gibt, den STACK-10x-FFMR-LARGE (C).	139
Abbildung 67: Schematischer Stoffkreislauf biologisch abbaubare Werkstoffe aus nachwachsenden Rohstoffen. ^[245]	142
Abbildung 68: Fließschema zur kontinuierlichen Darstellung von PLGA-Nanopartikeln über Nanopräzipitation und kontinuierlichem Abdampfen des THFs mittels des Fallfilmmikroreaktors.	145
Abbildung 69: Vergleich der mittleren Durchmesser von PLGA-Nanopartikeln, die durch Nanopräzipitation dargestellt worden sind, in Abhängigkeit von der Polymerkonzentration und dem Mischverhältnis im Batch und bei (semi-) kontinuierlicher Prozessführung.	146
Abbildung 70: TEM-Bilder von PLGA-Nanopartikeln, die kontinuierlich durch Nanopräzipitation dargestellt worden sind, bei einer Ausgangskonzentration von 1 wt% (<i>links</i>), 2 wt% (<i>Mitte</i>) und 3 wt% (<i>rechts</i>) PLGA in THF und einem Mischverhältnis der THF-Phase zur wässrigen Phase von 1:3.	148
Abbildung 71: Schematische Darstellung der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik.	151
Abbildung 72: (A) Schematische Darstellung der Probenherstellung für die Untersuchungen mit DC-FCCS und FRET um eine Koaleszenz der Tröpfchen zu untersuchen. ^[300] (B) Korrelationskurven (Symbole) und gefittete Funktionen (Linien) der DC-FCCS Messungen: (a) FCCS-1-P als Positivkontrolle, (b) FCCS-1-N als Negativkontrolle und (c) FCCS-1-A als aktuelle/tatsächliche Probe. ^[300]	155
Abbildung 73: Schematische Darstellung der einzelnen Stufen der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik bei Durchführung im kontinuierlichen Fluss.	156

- Abbildung 74: Mittlerer Tröpfchendurchmesser als Funktion der Gesamtflussrate beim Dispergieren von *n*-Heptan in einer wässrigen SDS-Lösung im Verhältnis von 1:5 bei für verschiedene Mikromischer (SIMM V2, CPMM-V1.2-R600/8, CPMM-V1.2-R1200/8) und 1:10 für den StarLam15.^[307] ... 158
- Abbildung 75: Vergleich der mittleren Tröpfchengröße in Abhängigkeit von der Gesamtflussrate beim Dispergieren von *n*-Heptan in einer wässrigen SDS-Lösung im Verhältnis von 1:4 bei Verwendung des SIMM V2 Ag40 Mikromischers^[308]. 159
- Abbildung 76: Ultraschalldurchflusszelle der Firma Hielscher (links) und deren schematischer Aufbau (rechts oben) und Funktionsweise (rechts unten). 160
- Abbildung 77: (a) Einstromen einer Makroemulsion aus Rapsöl und einer wässrigen SDS-Lösung in die Ultraschalldurchflusszelle bei Übergang von Schlauch auf Glasrohr. (b) Ausstromen der Miniemulsion aus der Ultraschallzelle. 161
- Abbildung 78: Langzeittest zur Stabilität von einer in der Ultraschalldurchflusszelle hergestellten Miniemulsion aus Rapsöl (O) in einer wässrigen SDS-Lösung (W) bei einem Mischverhältnis von 1:8 (O:W) und einer Gesamtflussrate von 1,27 mL/min, was einer Verweildauer von 30 sec in der Beschallungszone entspricht, nach 96 h. 161
- Abbildung 79: Fließschema zur kontinuierlichen Herstellung polymerer Nanopartikel mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik bestehend aus je einem Vorratsgefäß für die wässrige Tensidlösung und das in hydrophobem Lösungsmittel gelöste Polymer, zwei Pumpen, einem Mikromischer, einer Ultraschalldurchflusszelle mit Thermostat und separater Pumpe zum Druckaufbau, einem Fallfilmmikroreaktor mit angeschlossenem Thermostat, einem Stickstoff-Gasanschluss und einer Kühlfalle. 162
- Abbildung 80: Fließschema zur kontinuierlichen Herstellung polymerer Nanopartikel mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik bestehend aus je einem Vorratsgefäß für die wässrige Tensidlösung, das in hydrophobem Lösungsmittel gelöste Polymer sowie dem das in hydrophobem Lösungsmittel gelösten zweitem Polymer oder hydrophobem Cargo, drei Pumpen, zwei Mikromischer, einer Ultraschalldurchflusszelle mit Thermostat und separater Pumpe zum Druckaufbau, einem Fallfilmmikroreaktor mit angeschlossenem Thermostat, einem Stickstoff-Gasanschluss und einer Kühlfalle. 163
- Abbildung 81: CAD-Zeichnung von Silvio Kraus angefertigt (links) und deren Umsetzung als Aufbau im Labormaßstab (rechts). 164
- Abbildung 82: Berechnung des Totvolumens für die beiden Betriebsmöglichkeiten – 2 Pumpen, 1 Mischer (oben) und 3 Pumpen, 2 Mischer (unten) – des kontinuierlichen Aufbaus im Labormaßstabs (siehe Abbildung 81) zur Herstellung polymerer Nanopartikel mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik. 165
- Abbildung 83: Fließschema zur kontinuierlichen Herstellung polymerer Nanopartikel mit der Emulsions-Lösungsmittelverdampfungstechnik bestehend aus je einem Vorratsgefäß für die wässrige Tensidlösung, das in hydrophobem Lösungsmittel gelöste Polymer sowie das in hydrophobem Lösungsmittel gelöste zweite Polymer oder hydrophobe Cargo, drei Pumpen, zwei Mikromischer, einer Ultraschalldurchflusszelle mit Thermostat und separater Pumpe zum Druckaufbau, einem Fallfilmmikroreaktor mit angeschlossenem Thermostat, einem Stickstoff-Gasanschluss und einem Rückflusskühler mit angeschlossenem Kühlkreislauf. 169

Abbildung 84: Abhängigkeit der Partikelgröße von Polystyrol-Partikeln sowohl von der Polymer- als auch der SDS-Konzentration bei einer Gesamtflussrate von 4.1 mL/min und einem Mischverhältnis von 1:4 (organische Phase (0.82 mL/min) : wässrige Phase (3.28 mL/min)).	177
Abbildung 85: Auftragung der Partikelgröße von Polystyrol-Partikeln in Abhängigkeit von der Polystyrolkonzentration sowie dem Mischverhältnis zwischen der organischen und der wässrigen Phase bei einer festen Ausgangskonzentration von 3,0 g/L der wässrigen SDS-Lösung gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°. Die Gesamtflussrate betrug jeweils 4.1 mL/min, dies entspricht bei einem Mischverhältnis von 1:4 (organische Phase (0.82 mL/min) : wässrige Phase (3.28 mL/min)) und bei einem Mischverhältnis von 1:8 (organische Phase (0.46 mL/min) : wässrige Phase (3.64 mL/min)).	178
Abbildung 86: Zeichnung des römischen Gott Janus mit seinen zwei Gesichtern, die gleichzeitig in die Vergangenheit und die Zukunft blicken ^[319] (links) sowie ein TEM Bild von Janus-Partikeln aus Polystyrol und Poly-L-Lactid (rechts).	183
Abbildung 87: Übersicht möglicher Morphologien von Janus-Partikeln: a) Kugel mit zwei Kompartimenten, b) oberflächen-modifiziert mit kleinen Molekülen, c) hantelförmig, d) schneemannförmig, e+f) zylindrisch oder scheibenförmig.	184
Abbildung 88: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus und der stattfindenden Schritte zur Darstellung von Janus-Partikeln.	186
Abbildung 89: TEM-Bilder der Eisenoxid-Partikel (Ferrofluid, Webcraft GmbH, Gottmadingen), die zur Verkapselung in eine Polystyrolmatrix verwendet wurden; 0,3 mg Ferrofluid in 1 mL THF....	190
Abbildung 90: TEM-Bilder von Polystyrol-Partikeln mit ansteigendem Anteil an verkapseltem Magnetit (A) 0 %, (B) 10 %, (C) 20 %, (D) 30 %, (E) 40 %, (F) 50 %, (G) 60 %, (H) 80 % und (I) 100 % und der jeweiligen Angabe der mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180° gemessenen Größe sowie die Abweichung der Partikel.	196
Abbildung 91: Hybridpartikel bestehend aus Polystyrol mit zunehmendem Massenanteil an Magnetit von 0 wt%, 20 wt%, 40 wt%, 60 wt% und 100 wt% im Verhältnis zum Polymeranteil.	197
Abbildung 92: TEM-Bilder von Polystyrol-Partikel mit 20 wt% Magnetit hergestellt im a) Batch-Verfahren bzw. durch b) kontinuierliches Prozessieren.	198
Abbildung 93: Alle vier Proben bestehen aus Polystyrol-Nanopartikel mit 20 wt% an verkapseltem Magnetit in Wasser. Die beiden Proben a) und b) wurden im Batch hergestellt, die beiden Proben c) und d) mit dem kontinuierlichen Verfahren. Die Proben a) und d) sind im dispergierten Zustand, die Proben b) und c) wurden für drei Stunden - wie auf dem Bild zusehen – dem Magnetfeld eines Dauermagneten ausgesetzt.	199
Abbildung 94: Strukturformel und Mesomerie des Fluoreszenzfarbstoffs Nilrot.	202
Abbildung 95: a) 50 µL Nilrot in THF (0,3 g/L) gelöst und mit 2 mL Wasser vermischt; b) Probe nach Abdampfen des THF.	202
Abbildung 96: a) Nilrot verkapselt in Polystyrol-Partikel im Batch-Verfahren (links) bzw. hergestellt durch kontinuierliches Prozessieren (rechts). b) Nilrot verkapselt in Poly(Lactid-co-Glycolid) im Batch-Verfahren (links) bzw. hergestellte durch kontinuierliches Prozessieren (rechts).	207

Abbildung 97: Vergleich der Absorptionsspektren (a) und der normierten Fluoreszenzspektren (b) der im Batch hergestellten (PLGA-Batch) bzw. der kontinuierlich prozessierten PLGA-Partikel (PLGA-konti) mit verkapseltem Nilrot.....	208
Abbildung 98: Vergleich der Fluoreszenzspektren (a) und der normierten Fluoreszenzspektren (b) der im Batch hergestellten (PLGA-Batch) bzw. der kontinuierlich prozessierten PLGA-Partikel (PLGA-konti) mit verkapseltem Nilrot.....	209
Abbildung 99: Absorptionsspektren des in PLGA verkapselten Nilrots bei Zugabe von Wasser (je 500 µl Probe); a) gemessene Signalstärke, b) Verdünnungsfaktor herausgerechnet.	209
Abbildung 100: Absorptionsspektren des kontinuierlich verkapselten Nilrots in PLGA bei Zugabe von Wasser (je 500 µl Probe); a) gemessene Signalstärke, b) Verdünnungsfaktor herausgerechnet.	210
Abbildung 101: Im Batch-Verfahren verkapseltes Nilrot in PLGA (1) und verdünnt mit doppeltem Volumen an Wasser (2). Kontinuierlich verkapseltes Nilrot in PLGA (4) und verdünnt mit doppeltem Volumen an Wasser (3).....	210
Abbildung 102: Normiertes Absorptionsspektrum (a) und Fluoreszenzspektrum (b) des im Batch und des kontinuierlich verkapselten Nilrots in PLGA bei Verdünnung mit Wasser um den Faktor 10 sowie die kontinuierlich hergestellte Probe bei gleicher Verdünnung und mit 1 N NaOH angepassten pH-Wert zu der im Batch hergestellten Probe.	212
Abbildung 103: Normiertes Absorptionsspektrum (a) und Fluoreszenzspektrum (b) des im Batch (PLGA-Batch) und des kontinuierlich verkapselten Nilrots in PLGA (PLGA-konti) sowie die kontinuierlich hergestellte Probe nach Zugabe an Chloroform im Verhältnis 1:1 zum Probenvolumen, 3 minütigem Vortexen, Ultraschallbehandlung und Abdampfen des Chloroforms im Batch (PLGA-konti-Batch).	213
Abbildung 104: 1) Keilstrichformel von Chloroform. 2) Konstruktion des Chloroform-Moleküls anhand bekannter Atomradien (Wasserstoff: 31 pm ^[410] , Kohlenstoff: 76 pm ^[411] , Chlor: 102 pm ^[412]), Bindungslängen (C-H: 108 pm, C-Cl: 177 pm) ^[414] und Bindungswinkel (Cl-C-Cl: 110,3 °) mit Hilfe des Programms Creo 3 (PTC, Needham, Massachusetts, USA) durch Christian Hoffmann; Ansicht von oben (2a) und Ansicht von vorne (2b). Die teilweise transparente Kugel in 2a) und 2b) wurde verwendet um den Radius des Moleküls abzuschätzen.	216
Abbildung 105: Mit Chemcraft durch Steffen Treiling erstellte 3D-Modelle der Moleküle a) Chloroform und b) Nilrot. Die ● sollen dabei Kohlenstoffatomen entsprechen, die ○ Wasserstoffatomen, die ● Sauerstoffatomen, die ● Stickstoffatomen und die ● Chloratomen.	217
Abbildung 106: Schematische Darstellung des zellulären Aufbaus der Blut-Hirn-Schranke ^[428] (modifiziert von Helen Onyema ^[428] nach ^[431]). Die Blut-Hirn-Schranke besteht hauptsächlich aus Kapillarendothelzellen, welche von einer Basalmembran umgeben sind. Die BHS ist über die Endfüßchen der Astrozyten mit Neuronen verbunden. Die Astrozyten fördern über die Ausschüttung spezifischer Wachstumsfaktoren die Bildung sowie den Erhalt von <i>tight junctions</i> (TJ). Perizyten generieren durch Kontraktion den Blutfluss der Hirnkapillaren, sind aber nicht essentiell für die Bildung der BHS. ^[428]	223

Abbildung 107: Transportwege an der Blut-Hirn-Schranke (modifiziert von Helen Onyema ^[428] nach ^[431]). a) Passive Diffusion wasserlöslicher Stoffe parazellulär über <i>tight junctions</i> . b) Transzelluläre Diffusion lipophiler Stoffe. c) Transportproteine für große Moleküle (z.B. Glukose oder Aminosäuren). d) Spezifische Rezeptor-vermittelte Transzytose für Proteine (z.B. Insulin oder Transferrin). e) Adsorptions-vermittelte Transzytose basierend auf elektrostatischer Interaktion zwischen einem positiv geladenem Molekül (z.B. Albumin) und der negativ geladenen Plasmamembran. f) Aktiver Efflux (aktive Transporter/ Pumpen wie z.B. p-gp) zur Entfernung unerwünschter Moleküle.	225
Abbildung 108: Rationales Design eines nanopartikulären Wirkstoffträgersystems. ^[120]	226
Abbildung 109: Schematische Darstellung des EPR-Effekts (engl. <i>enhanced permeability and retention</i> , dt.erhöhte Permeabilität und Retention) (modifiziert von Helen Onyema ^[428] nach ^[510]).	230
Abbildung 110: TEM Bilder von PLGA-Nanopartikel mit PMI-Farbstoff sowohl ohne (a) als auch mit verkapseltem Eisenoxid (b).	235
Abbildung 111: Partikelaufnahme in Zellen der humanen Glioblastomzelllinie U-251 MG von PLGA-Nanopartikeln mit (PLGA-Fe _x O _y -SDS) und ohne (PLGA-SDS) verkapselten, magnetischen Eisenoxid-Partikel jeweils stabilisiert mit SDS mit einer Partikelkonzentration von 150 µg/ml für 0,5 h, 1 h, 3 h und 6 h bei 37 °C und 5% CO ₂ . Zum Vergleich wurden die Versuche mit PLGA-Fe _x O _y -SDS mit und ohne Einfluss eines Magnetfeldes durchgeführt. Es erfolgte eine Normierung auf den Wert von PLGA-SDS nach 6 h. Durchführung einer zweifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) mit Tuckey-Post-Test zur Bestimmung der Signifikanz (*: P < 0,0332; **: P < 0,0021).	237
Abbildung 112: Toxizitäts- bzw. Viabilitätsanalyse für die Partikelaufnahme in Zellen der humanen Glioblastomzelllinie U-251 MG von PLGA-Nanopartikeln mit (PLGA-Fe _x O _y -SDS) und ohne (PLGA-SDS) verkapselten, magnetischen Eisenoxid-Partikel jeweils stabilisiert mit SDS mit einer Partikelkonzentration von 150 µg/ml für 0,5 h, 1 h, 3 h und 6 h bei 37 °C und 5 % CO ₂ mit und ohne Einfluss eines Magnetfeldes. Für die Negativkontrolle (NK7) wurden Zellen ohne Nanopartikel kultiviert.	237
Abbildung 113: Aufnahmen der konfokalen Laser-Scanning-Mikroskopie von Zellen der humanen Glioblastomzelllinie U-251 MG. Die einzelnen Zellkompartimente wurden mit folgenden Farbstoffen angefärbt: Zellmembran rot mit Cell Mask™ orange, Zellkern blau mit Höchst 33342 und Lysosomen rot mit LysoTracker® Deep Red. a) und b) zeigen Negativkontrollen ohne eine Zugabe von Partikeln bei denen die Zellkompartimente (Zellkern, - membran und Lysosomen) angefärbt wurden. Für c) und d) wurden die Zellen mit der Probe PLGA-SDS mit einer Partikelkonzentration von 150 µg/ml für 20 Stunden bei 37 °C und 5% CO ₂ inkubiert. Die Partikel wurden mit dem grün fluoreszierenden Farbstoff PMI (N-(2,6-diisopropylphenyl)-perylene-3,4-dicarbonacidimide) angefärbt. c) Zur Verifizierung der Partikelaufnahme wurden die Zellmembran in Rot und die Zellkerne in Blau angefärbt. d) Nach der Partikelaufnahme wurden der Zellkern blau und die Lysosomen rot gefärbt.	239

Abbildung 114: Massenspektrometrische Analysen der Proteinkorona von PLGA-SDS und PLGA-Fe_xO_y-SDS. Zur Vorbereitung wurden Partikel mit jeweils einer Gesamtoberfläche von 0,1 m² mit 500 µl Blutplasma für eine Stunde bei 500 U/min auf dem Heiz-ThermoMixer bei 37 °C inkubiert. Die Messungen und Analysen wurden vom Institut für molekulare Biologie gGmbH (IMB) in Mainz durchgeführt. Die Kreisdiagramme zeigen die 10 Proteine, welche den größten Anteil an der Proteinkorona besitzen. 242

7.4 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifizierung der verschiedenen Arten kolloidaler Verteilungen. ^[25]	16
Tabelle 2: Typische HLB-Werte (nach Griffin) für verschiedene Anwendungen. ^[63]	36
Tabelle 3: Abschätzung des HLB-Wertes eines Tensids aus seinem Verhalten gegenüber Wasser.	37
Tabelle 4: Beispiele für HLB-Werte hydrophiler und lipophiler Gruppen nach Davies ^[65] , Davies und Rideal ^[66] und Lin ^[67] .	37
Tabelle 5: Auflistung der wesentlichen Merkmale und Unterschiede von Makro-, Mikro- und Miniemulsionen (modifiziert nach ^[68]).	38
Tabelle 6: Spezifikationen der Raupenmischer CPMM-V1.2-R300 ^[122]	58
Tabelle 7: Spezifikationen der SIMM-V2 ^[127] und -V4 Mikromischer	59
Tabelle 8: Klassifizierung nach diamagnetischen, paramagnetischen und ferromagnetischen Materialien anhand ihrer Suszeptibilität χ . ^[141]	65
Tabelle 9: Berechnung des Druckverlustes mit Hilfe des Programms <i>Druckverlust</i> 6.2 (Software-Factory, Schifferstadt, Deutschland) bei Nutzung des STACK-1x-FFMR-LAB-V2 bei einer Temperierung auf 65 °C und einer Flussrate von 1000 mL/min des Stickstoffgases.	118
Tabelle 10: Berechnung des Faktors der Aufkonzentrierung ausgehend von der tatsächlichen Flussrate des Feedstroms und der gravimetrisch bestimmten Flussrate des Eluats in Abhängigkeit der Flussrate des Feedstrom und des Stickstoffgegenstrom sowie der jeweiligen Temperatur. ...	119
Tabelle 11: Anteil des verdampften Wasser in Abhängigkeit der Flussrate des Feedstrom und des Stickstoffgegenstrom sowie der jeweiligen Temperatur.	121
Tabelle 12: Vergleich der Partikelgröße der Pluronic® L121-Vesikel nach dem vollständigen Abdampfen von THF im Batch bzw. semikontinuierlich mit dem Fallfilmmikroreaktor gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® ohne Verdünnung bei einem Winkel von 180°.	136
Tabelle 13: Spezifikationen der Fallfilmmikroreaktoren STACK-1x-FFMR-LAB ^[242] , STACK-1x-FFMR-LARGE ^[242] und STACK-10x-FFMR-LARGE ^[242]	139
Tabelle 14: Natürliche und synthetische bioabbaubare Polymere. ^[243,244]	141
Tabelle 15: Vergleich der mittleren Durchmesser und der mittleren Abweichung gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180° von PLGA-Nanopartikeln, die durch Nanopräzipitation dargestellt worden sind, in Abhängigkeit von der Polymerkonzentration und dem Mischverhältnis und der Herstellungsmethode (Batch, semikontinuierliche oder kontinuierliche Prozessführung).	146
Tabelle 16: Leistung der verwendeten Geräte im Vergleich zwischen dem kontinuierlichen Aufbau und dem Standard Labor-Batch-Verfahren ^[255] für jeweils 24 mL Partikeldispersion. Dabei wurde angenommen, dass die Effizienz der Ultraschallsonotrode bei mindestens 50 % liegt; das Cryostat also nur eine Kühlleistung von 10 Watt aufbringen muss um die Kühlwassertemperatur konstant zu halten (Ultraschall-Bruttoleistung 20 Watt).	167

Tabelle 17: Vergleich des Einfluss auf die resultierende Größe von Polystyrol-Partikeln beim Emulgieren der Präemulsion mit einem T-Stück oder einem Mikromischer und darüber hinaus beim Abdampfen im Batch über Nacht unter Rühren im Ölbad oder kontinuierlich über den Fallfilmmikroreaktor gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°	173
Tabelle 18: Vergleich des Einfluss der Molmasse des Polymers anhand von Polystyrol als Referenz auf die Größe der hergestellten Nanopartikel gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°	174
Tabelle 19: Partikelgröße von Polystyrol-Partikeln in Abhängigkeit von der Polystyrol- (0,5 g/L, 2 g/L, 3 g/L und 5 g/L) sowie der SDS-Konzentration (1,5 g/L, 3 g/L und 4,5 g/L, CMC = 2,36 g/L) bei einer Gesamtflussrate von 4.1 mL/min und einem Mischverhältnis von 1:4 (organische Phase (0.82 mL/min) : wässriger Phase (3.28 mL/min)) gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°	176
Tabelle 20: Partikelgröße von Polystyrol-Partikeln in Abhängigkeit der Polymerkonzentration sowie dem Mischverhältnis zwischen organischer und wässriger Phase bei einer festen Ausgangskonzentration von 3,0 g/L der wässrigen SDS-Lösung gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°. Die Gesamtflussrate betrug jeweils 4.1 mL/min, dies entspricht bei einem Mischverhältnis von 1:4 (organische Phase (0.82 mL/min) : wässriger Phase (3.28 mL/min)) und bei einem Mischverhältnis von 1:8 (organische Phase (0.46 mL/min) : wässriger Phase (3.64 mL/min))	179
Tabelle 21: Auflistung der jeweiligen Zusammensetzung von Janus-Partikeln aus Polystyrol und Poly-L-Lactid bei einer festen Ausgangskonzentration von 3 wt% Polymer in der organischen Phase sowie der Partikelgröße gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180° und TEM Bildern. Die Ausgangskonzentration der wässrigen SDS-Lösung betrug bei allen Versuchen 3,0 g/L. Die organische und wässrige Phase wurden im Verhältnis 1:4 (O:W) gemischt bei einer Gesamtflussrate von 4,1 mL/min.	188
Tabelle 22: Partikelgröße von Hybridpartikeln aus Polystyrol und Magnetit mit einem Massenanteil an Magnetit von 0 % - 100 % im Verhältnis zu Polystyrol gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°	195
Tabelle 23: Vergleich der mittleren Partikelgröße und deren Verteilung bei der Herstellung von Hybridpartikeln aus Polystyrol und Magnetit mit einem Massenanteil an Magnetit von 0 -100 % im Verhältnis zur Polystyrolkonzentration im Batch-Verfahren bzw. bei kontinuierlicher Prozessierung gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°	199
Tabelle 24: Abhängigkeit vom Lösungsmittel der Absorptions- und Emissionsmaxima sowie der relativen Fluoreszenzintensität von Nilrot. ^[375]	203
Tabelle 25: Vergleich der Partikelgrößen bei der Verkapselung von Nilrot in Polystyrol bzw. PLGA (Poly(D,L-lactid-co-glycolid)) im Batch bzw. kontinuierlich prozessiert gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°	206
Tabelle 26: Messung des pH-Wertes von einer Verdünnungsreihe von im Batch und kontinuierlich verkapseltem Nilrot in PLGA mit Stabilisierung der Partikel durch SDS sowie von einer 3 wt% wässrigen SDS Lösung	211

Tabelle 27: Vergleich der Partikelgrößen bei der Verkapselung von Nilrot in PLGA (Poly(D,L-lactid-co-glycolid)) im Batch (PLGA-Batch), kontinuierlich prozessiert (PLGA-konti) und nach Auflösen der kontinuierlich hergestellten Partikel und erneuter Partikelbildung im Batch (PLGA-konti-Batch), gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°.	213
Tabelle 28: Zusammenstellung der mit unterschiedlichen Methoden abgeschätzten und berechneten Durchmesser von Nilrot und Chloroform.	217
Tabelle 29: Auflistung der Partikelgröße (gemessen mit dynamischer Lichtstreuung am NANO-flex® bei einem Winkel von 180°), des ζ -Potential sowie der Feststoffkonzentration der mit SDS stabilisierten und mit PMI fluoreszenzmarkierten PLGA-Nanopartikel ohne (PLGA-SDS) und mit verkapseltem Magnetit (PLGA-Fe _x O _y -SDS).	235
Tabelle 30: Auflistung der jeweils 10 häufigsten Proteine in der Proteinkorona von PLGA (a) und PLGA-Fe _x O _y -SDS (b) nach massenspektrometrischen Analysen. Zur Vorbereitung wurden Partikel mit jeweils einer Gesamtoberfläche von 0,1 m ² mit 500 µl Blutplasma für eine Stunde bei 500 U/min auf dem Heiz-ThermoMixer bei 37 °C inkubiert.	241
Tabelle 31: Reaktionsparameter zur Untersuchung des Einflusses der Emulgier- sowie der Abdampfmethode auf die resultierende Partikelgröße	264
Tabelle 32: Reaktionsparameter zur Untersuchung des Einflusses der Molmasse (M _w) auf die resultierende Partikelgröße	264
Tabelle 33: Reaktionsparameter zur Untersuchung des Einflusses der Tensid- sowie der Polymerkonzentration auf die resultierende Partikelgröße.	265
Tabelle 34: Reaktionsparameter zur Untersuchung des Einflusses des Mischverhältnisses bei unterschiedlichen Polymerkonzentrationen auf die resultierende Partikelgröße	266
Tabelle 35: Zusammenstellung der Reaktionsparameter zur Herstellung von Janus-Partikeln mit unterschiedlichen Anteilen an Polystyrol und Poly-L-Lactid.	268
Tabelle 36: Reaktionsparameter zur Herstellung von Hybridpartikeln aus Polystyrol und Magnetit mit einem Massenanteil an Magnetit von 0 -100 % im Verhältnis zu Polystyrol.	270
Tabelle 37: Übersicht der verwendeten Farbstoffe und Fluorochrome. ^[428]	278
Tabelle 38: Übersicht der verwendeten Geräte. ^[428]	279
Tabelle 39: Übersicht der verwendeten Softwares. ^[428]	279
Tabelle 40: Übersicht der verwendeten Verbrauchsmaterialien. ^[428]	280
Tabelle 41: Übersicht über verwendete Reagenzien. ^[428]	280
Tabelle 42: Übersicht der eingesetzten Medien für die Zellkultivierung. ^[428]	280

8 EIGENE VERÖFFENTLICHUNGEN

Teile dieser Arbeit wurden bereits publiziert und auf wissenschaftlichen Konferenzen im Rahmen von Vorträgen und Postern präsentiert.

8.1 Publikationen

- **S. von Bomhard**, J. Schramm, R. Bleul, R. Thiermann, P. Höbel, U. Krtschil, P. Löb, M. Maskos, „*Modular manufacturing platform for continuous synthesis and analysis of versatile nanomaterials*“, Chemical Engineering & Technology, submitted.
- **S. von Bomhard**, K.-P. Schelhaas, S. Alebrand, A. Musyanovych, M. Maskos, K.S. Drese, „*Selective solvent evaporation from binary mixtures of water and THF using a falling film micro reactor*“, Green Processing and Synthesis, 6 (2017) 4, 403–411, doi:10.1515/gps-2016-0121.
- **S. von Bomhard**, „*Hefe als Bioindikator für Gewässerverunreinigung*“, WLB – Wasser, Luft und Boden, TerraTech Vereinigte Fachverlage, 47, 6, 17-20, 2003.

8.2 Vorträge

- **S. von Bomhard**, „*Microreaction Technology as versatile toolbox for Continuous encapsulation*“, NanoPharm Meeting, Mainz, März 2018.
- **S. von Bomhard**, Science Slam, „*Quantum Dots – Leuchtende Zwerge: auf die Grösse kommt es an*“, Fraunhofer-Alumni-Summit 2017, Stuttgart, November 2017.
- **S. von Bomhard**, „*Smarte Zwerge – Nanopartikel, kleine Teilchen für große Anwendungen*“, „Talent Take Off - Vernetzen“, Darmstadt, Juni 2017.

8.3 Filmbeitrag

- **S. von Bomhard**, R. Bleul, R. Thiermann, C. Bröckelmann, M. Maskos, „*Continuously manufactured polymersomes by self-assembly using micro technology*“, Beilstein TV, Frankfurt am Main, 2016, <http://www.beilstein.tv/video/continuously-manufactured-polymersomes-by-self-assembly-using-micro-technology/>.

8.4 Postervorträge

- **S. von Bomhard**, A. Musyanovych; L. Bacher; J. Schramm; P. Höbel; R. Thiermann; R. Bleul; P. Löb; M. Maskos „*Polymeric nanoparticles – modular set-ups for the continuous formation and downstream processing*“, International Conference on Micro Reaction Technology - IMRET 2018, Karlsruhe, Oktober 2018.
- **S. von Bomhard**, A. Musyanovych, L. Bacher, J. Schramm, P. Höbel, R. Thiermann, R. Bleul, P. Löb, M. Maskos, „*Continuous processes for the formation of various polymeric nanoparticles*“, Particle Based Materials Symposium, Erlangen, September 2018.
- **S. von Bomhard**, M. Maskos, A. Musyanovych, „*Polymeric nanoparticles with defined characteristics through miniemulsion in a continuous flow*“, NanoPharm Meeting, Mainz, März 2018.
- R. Bleul, **S. von Bomhard**, R. Thiermann, G. U. Marten, M. J. House, T. G. St. Pierre, U. O. Häfeli, M. Maskos, „*Continuously manufactured magnetic polymersomes – smart nanocarriers for theranostic applications*“, NanoPharm Meeting, Mainz, März 2018.
- **S. von Bomhard**, M. Maskos, A. Musyanovych, „*Kontinuierliche Herstellung polymerer Nanopartikel mit kontrollierten Eigenschaften durch Miniemulsionstechnik*“, DECHEMA, Infotag „Advanced Materials: Was können/müssen neue Prozesstechnologien beitragen?“, Frankfurt, Dezember 2016.
- **S. von Bomhard**, M. Maskos, A. Musyanovych, „*Polymeric nanoparticles with defined characteristics through miniemulsion in a continuous flow*“, 6th International Colloids Conference, Berlin, Juni 2016.
- **S. von Bomhard**, M. Maskos, A. Musyanovych, „*Polymer-based Nanoparticles with Controlled Morphology through Miniemulsion in a Continuous Flow*“, 15th International Conference of the Flow Chemistry Society, Cambridge, UK, Februar 2016.
- **S. von Bomhard**, A. Mpoukouvalas, K. Friedemann, M. Maskos, A. Musyanovych, „*Scaled-up Formulation of Polymer Particles through Miniemulsion in a Continuous Flow*“, 15th Conference of the International Association of Colloid and Interface Scientists, Mainz, Mai 2015.
- R. Bleul, **S. von Bomhard**, R. Thiermann, G. U. Marten, M. J. House, T. G. St. Pierre, U. O. Häfeli, M. Maskos, „*Continuously manufactured magnetic polymersomes – smart nanocarriers for theranostic applications*“, 20. Ostwald-Kolloquium "Particles @ Interfaces", Mainz, September 2014.

9 QUELLENVERZEICHNIS

- [1] R.P. Feynman, *There's Plenty of Room at the Bottom: An Invitation to Enter a New World of Physics*, Caltech Engineering and Science 23 (**1960**) 5, 22–36.
- [2] H. Rohrer, *Nanotechnik*, Bulletin - Magazin der ETH Zürich (**1998**) 269, 13.
- [3] S. Reuss, *Nanotechnologie im Schulunterricht: am Beispiel Rastertunnelmikroskop und Ferrofluid. Schriftliche Hausarbeit für die erste Staatsprüfung für ein Lehramt an Gymnasien*, Würzburg, **2011**.
- [4] S.K. Knauer, R.H. Stauber, *Kontroverse im „Nanohype“: Nanopartikel – Freund oder Feind?*, DZKF (**2009**) 5/6, 1–7.
- [5] S.M. Schnurre, T. Hülser, H. Wiggers, *Synthesemethoden für maßgeschneiderte Nanopartikel aus der Gasphase*, **2013**, <https://www.git-labor.de/forschung/materialien/synthesemethoden-fuer-massgeschneiderte-nanopartikel-aus-der-gasphase>, accessed 27 December 2018, 17.56 Uhr.
- [6] Europäische Patentorganisation, *Werkstoffkunde: Nanotechnologie im Rampenlicht*, **2015**, https://www.epo.org/news-issues/technology/materials/nanotechnology_de.html, accessed 3 January 2019, 11.14 Uhr.
- [7] A. Rössler, G. Skillas, S.E. Pratsinis, *Nanopartikel — Materialien der Zukunft: Maßgeschneiderte Werkstoffe*, Chemie in unserer Zeit 35 (**2001**) 1, 32–41.
- [8] T. Hülser, S.M. Schnurre, H. Wiggers, C. Schulz, *Gas-Phase Synthesis of Nanoscale Silicon as an Economical Route towards Sustainable Energy Technology*, KONA 29 (**2011**) 0, 191–207.
- [9] Kretzschmar, Thomas, *Aufbau und Charakterisierung eines optofluidischen Mikroreaktors für die Nanopartikelsynthese. Masterarbeit*, Duisburg-Essen, **2014**.
- [10] H. Goesmann, C. Feldmann, *Cover Picture: Nanoparticulate Functional Materials (Angew. Chem. Int. Ed. 8/2010)*, Angewandte Chemie International Edition 49 (**2010**) 8, 1333.
- [11] W. Ehrfeld (Ed.), *Microreaction Technology: Industrial Prospects*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2000**.
- [12] W. Ehrfeld, V. Hessel, H. Lehr, *Microreactors for Chemical Synthesis and Biotechnology — Current Developments and Future Applications*, in: A. de Meijere, J.-M. Lehn, J. Thiem, F. Vögtle, K.N. Houk, S.V. Ley, B.M. Trost, H. Yamamoto, A. Manz, H. Becker (Eds.), *Microsystem Technology in Chemistry and Life Science*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **1998**, 233–252.
- [13] W. Ehrfeld, V. Hessel, H. Löwe, *Microreactors: New technology for modern chemistry*, 1st ed., Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- [14] F. Bally, C.A. Serra, V. Hessel, G. Hadziioannou, *Micromixer-assisted polymerization processes*, Chemical Engineering Science 66 (**2011**) 7, 1449–1462.
- [15] C. Raab, M. Simkó, U. Fiedeler, M. Nentwich, A. Gazsó, *Herstellungsverfahren von Nanopartikeln und Nanomaterialien: NanoTrust-Dossiers*, **2008**, epub.oeaw.ac.at/ita/nanotrust-dossiers/dossier006.pdf, accessed 27 December 2018, 18.31 Uhr.

- [16] J.V. Alemán, A.V. Chadwick, J. He, M. Hess, et al., *Definitions of terms relating to the structure and processing of sols, gels, networks, and inorganic-organic hybrid materials (IUPAC Recommendations 2007)*, Pure and Applied Chemistry 79 (2007) 10, 1801–1829.
- [17] M. Vert, Y. Doi, K.-H. Hellwich, M. Hess, et al., *Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012)*, Pure and Applied Chemistry 84 (2012) 2, 377–410.
- [18] *Scientific basis for the definition of the term “nanomaterial”*, European Commission, Brussels, 2010.
- [19] V. Mailänder, K. Landfester, *Interaction of nanoparticles with cells*, Biomacromolecules 10 (2009) 9, 2379–2400.
- [20] L.K. Limbach, R. Bereiter, E. Müller, R. Krebs, et al., *Removal of Oxide Nanoparticles in a Model Wastewater Treatment Plant: Influence of Agglomeration and Surfactants on Clearing Efficiency*, Environ. Sci. Technol. 42 (2008) 15, 5828–5833.
- [21] J.R. Nagel, M.A. Scarpulla, *Enhanced absorption in optically thin solar cells by scattering from embedded dielectric nanoparticles*, Optics express 18 Suppl 2 (2010) A139–46.
- [22] J. Fischer, *Janus im Reagenzglas*, Spektrum der Wissenschaft (2011) 33,
- [23] O. Zupke, *Nanoparticles for efficient uptake by Human Dendritic Cells and T Lymphocytes to be used in Adoptive Immunotherapy. Dissertation*, Mainz, 2012.
- [24] O. Koshkina, *Multifunktionelle Poly(organosiloxan)-Nanopartikel als Modellsystem für biomedizinische Anwendungen. Dissertation*, Berlin, 2014.
- [25] G. Lagaly, O. Schulz, R. Zimehl, *Dispersionen und Emulsionen: Eine Einführung in die Kolloidik feinverteilter Stoffe einschließlich der Tonminerale*, Steinkopff, Heidelberg, 1997.
- [26] D.H. Everett, *Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units, Appendix II: Definitions, Terminology and Symbols in Colloid and Surface Chemistry*, Pure and Applied Chemistry 31 (1972) 4, 577–638.
- [27] S. Heinrich, *Regulierung neuer Technologien – konkurrierende Sicherheitskulturen am Beispiel der Nanotechnologie*, in: H.-J. Lange, M. Wendekamm, C. Endreß (Eds.), *Dimensionen der Sicherheitskultur*, Springer VS, Wiesbaden, 2014, 163–178.
- [28] M. Preisinger, *Manipulation der elektronischen Oberflächeneigenschaften monodispersiver Eisenoxid-Nanopartikel. Dissertation*, Augsburg, 2005.
- [29] C. Scherer, *Nanopartikelcharakterisierung: Untersuchung des Retentionsverhaltens in der AF-FFF und der bimodalen Größenverteilung sauer katalysierter Poly(organosiloxan)-Dispersionen. Dissertation*, Mainz, 2010.
- [30] H. Weller, *Kolloidale Halbleiter-Q-Teilchen: Chemie im Übergangsbereich zwischen Festkörper und Molekül*, Angew. Chem. 105 (1993) 1, 43–55.
- [31] A. Fürstner (Ed.), *Active metals: Preparation, characterization, applications*, VCH, Weinheim, 1996.
- [32] M. Boutonett, J. Kizling, R. Touroude, G. Maire, P. Stenius, *Monodispersed colloidal metal particles from non-aqueous solutions: Catalytic behaviour for the hydrogenation of but-1-ene of platinum particles in solution*, Applied Catalysis 20 (1986) 1-2, 163–177.

-
- [33] H. Schmidbau, G. Schmid (Ed.): *Clusters and colloids - from theory to applications*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1994, ISBN 3-527-29043-5, 555 Seiten, Preis: DM 248,-, Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie 98 (**1994**) 9, 1210–1211.
- [34] T. Higuchi, *Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices*, Journal of pharmaceutical sciences 52 (**1963**) 12, 1145–1149.
- [35] J.M. Chan, L. Zhang, K.P. Yuet, G. Liao, et al., *PLGA-lecithin-PEG core-shell nanoparticles for controlled drug delivery*, Biomaterials 30 (**2009**) 8, 1627–1634.
- [36] J. Maier, *Synthese und Anwendung von FERR-b-PEO stabilisierten SPIO Partikeln als Kontrastmittelsystem für die Magnetresonanztomographie. Dissertation*, Halle-Wittenberg, **2008**.
- [37] J. Liu, Y. Ikushima, Z. Shervani, *Environmentally benign preparation of metal nano-particles by using water-in-CO₂ microemulsions technology*, Current Opinion in Solid State and Materials Science 7 (**2003**) 3, 255–261.
- [38] T.J. Daou, G. Pourroy, S. Bégin-Colin, J.M. Grenèche, et al., *Hydrothermal Synthesis of Monodisperse Magnetite Nanoparticles*, Chem. Mater. 18 (**2006**) 18, 4399–4404.
- [39] M.-I. Baraton (Ed.), *Synthesis, functionalization and surface treatment of nanoparticles*, American Scientific Publ, Stevenson Ranch, Calif., **2003**.
- [40] J. Schüle, *Kontinuierliche Synthese & Funktionalisierung von Nanopartikeln. Diplomarbeit*, Mainz, **2011**.
- [41] E.-M. Rosenbauer, *Verkapselung von hydrophilen Agenzien mittels inverser Miniemulsionstechnik und deren kontrollierte Freisetzung. Dissertation*, Ulm, **2009**.
- [42] H.-D. Dörfler, *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme: Physik und Chemie*, Springer, Berlin, **2002**.
- [43] H. Hoffmann, G. Ebert, *Tenside, Micellen und faszinierende Phänomene*, Angew. Chem. 100 (**1988**) 7, 933–944.
- [44] K.A. Eslahian, *Untersuchung der Thermophorese negativ geladener Modellkolloide in wässrigen Suspensionen mittels der Thermischen Feld-Fluss Fraktionierung. Dissertation*, Berlin, **2014**.
- [45] T. Lang, *Charakterisierung von Nanopartikel-Protein Agglomeraten in biologisch relevanten Medien. Dissertation*, Berlin, **2014**.
- [46] J.N. Israelachvili, *Intermolecular and surface forces*, 3rd ed.
- [47] H.C. Hamaker, *The London—van der Waals attraction between spherical particles*, Physica 4 (**1937**) 10, 1058–1072.
- [48] W. Kunz, P. Lo Nostro, B.W. Ninham, *The present state of affairs with Hofmeister effects*, Current Opinion in Colloid & Interface Science 9 (**2004**) 1-2, 1–18.
- [49] J.T.G. Overbeek, *The Rule of Schulze and Hardy*, Pure and Applied Chemistry 52 (**1980**) 5, 1151–1161.
- [50] R. Sauer, *Maßgeschneiderte polymerisierbare Tenside zur simultanen Stabilisierung und Oberflächenfunktionalisierung von Nanopartikeln in der Miniemulsionspolymerisation. Dissertation*, Mainz, **2011**.

-
- [51] K. Margarit-Puri, *Funktionalisierte Latexpartikel. Dissertation*, Mainz, **2001**.
 - [52] H.-J. Butt, K. Graf, M. Kappl, *Physics and chemistry of interfaces*, 1st ed., Wiley-VCH, Weinheim, **2003**.
 - [53] B. Lindman, H. Wennerström, *Miceles. Amphiphile aggregation in aqueous solution*, Topics in current chemistry 87 (**1980**) 1–87.
 - [54] P. Finkle, H.D. Draper, J.H. Hildebrand, *THE THEORY OF EMULSIFICATION 1*, J. Am. Chem. Soc. 45 (**1923**) 12, 2780–2788.
 - [55] M.L. Soto-Portas, J.F. Argillier, F. Méchin, N. Zydowicz, *Preparation of oily core polyamide microcapsules via interfacial polycondensation*, Polym. Int. 52 (**2003**) 4, 522–527.
 - [56] W.D. Bancroft, *The Theory of Emulsification V.*, J. Phys. Chem. 17 (**1913**) 501–519.
 - [57] E. Ruckenstein, *Microemulsions, Macroemulsions, and the Bancroft Rule*, Langmuir 12 (**1996**) 26, 6351–6353.
 - [58] W.D. Bancroft, *The Theory of Emulsification I*, J. Phys. Chem. 16 (**1911**) 3, 177–233.
 - [59] W.D. Bancroft, *The Theory of Emulsification III*, J. Phys. Chem. 16 (**1911**) 6, 475–512.
 - [60] W.D. Bancroft, *The Theory of Emulsification IV*, J. Phys. Chem. 16 (**1911**) 9, 739–758.
 - [61] P. Li, Z. Zhu, M. Peng, *Hollow particles prepared by polymerizing the spontaneous vesicles of anionic maleic surfmer and cationic monomer*, J Mater Sci 43 (**2008**) 16, 5651–5653.
 - [62] W.C. Griffin, *Calculation of HLB values of non-ionic surfactants*, Journal of Cosmetic Science 5 (**1954**) 4, 249–256.
 - [63] R. Heusch, *Grundlagen zur Emulgierwirkung von Tensiden*, in: K. Kosswig, H. Stache (Eds.), *Die Tenside*, C. Hauser Verlag, München, Wien, **1993**, 203–249.
 - [64] R. Kreuter, *Der Aufbau von Emulsionen*, Seifen - Öle - Fette - Wachse 97 (**1971**) 847–850.
 - [65] J.T. Davies, *A quantitative kinetic theory of emulsion type. I. Physical chemistry of the emulsifying agent. Proceedings of the Second International Congress on Surface Activity*, Butterworth, London, Gas/Liquid and Liquid/Liquid Interfaces 1, 1957, 426–438.
 - [66] J.T. Davies, E.K. Rideal, *Interfacial Phenomena*, 2nd ed., Acad. Press, London, **1963**.
 - [67] I.J. Lin, *Hydrophile-lipophile balance (hlp) of fluorocarbon surfactants and its relation to the critical micelle concentration (cmc)*, J. Phys. Chem. 76 (**1972**) 14, 2019–2023.
 - [68] C.H.W. Holtze, *Neue Einflüsse und Anwendungen von Mikrowellenstrahlung auf Miniemulsionen und ihre Kompositpolymere. Dissertation*, Potsdam, **2005**.
 - [69] K. Shinoda, S. Friberg, *Microemulsions: Colloidal aspects*, Advances in colloid and interface science 4 (**1975**) 4, 281–300.
 - [70] V.K. Bansal, D.O. Shah, *Microemulsions and Tertiary Oil Recovery*, in: L.M. Prince (Ed.), *Microemulsions: Theory and practice*, Academic Press, New York, **1977**, 149–173.
 - [71] K. Mittal, *Micellization, Solubilization, and Microemulsions: Volume 1*, Springer Verlag, **2014**.
 - [72] S. Friberg, *Microemulsions and Micellar Solutions*, in: L.M. Prince (Ed.), *Microemulsions: Theory and practice*, Academic Press, New York, **1977**, 133–148.

-
- [73] L.M. Prince, *Microemulsions - Theory and Practice*, Elsevier, **1977**.
- [74] D.O. Shah, R.S. Schechter, *Improved oil recovery by surfactant and polymer flooding*, Academic Press, New York, **1977**.
- [75] K. Shinoda, H. Kunieda, *How to Formulate Microemulsions with Less Surfactant*, in: L.M. Prince (Ed.), *Microemulsions: Theory and practice*, Academic Press, New York, **1977**, 57–89.
- [76] I.D. Robb, *Microemulsions*, Springer US; Imprint; Springer, Boston, MA, **1982**.
- [77] D.O. Shah, *Macro- and Microemulsions*, American Chemical Society, Washington, D.C., **1985**.
- [78] H.L. Rosano, M. Clausse (Eds.), *Microemulsion systems: [the 59th Colloid and Surface Science Symposium and the 5th International Conference on Surface and Colloid Science were held on the campus of the Clarkson College of Technology in Potsdam, New York, June 14 - 28, 1985]*, Dekker, New York, **1987**.
- [79] W.M. Gelbart, A. Ben-Shaul, D. Roux (Eds.), *Micelles, Membranes, Microemulsions, and Monolayers*, Springer, New York, NY, **1994**.
- [80] A. Kabalnov, B. Lindman, U. Olsson, L. Piculell, et al., *Microemulsions in amphiphilic and polymer-surfactant systems*, *Colloid Polym Sci* 274 (**1996**) 4, 297–308.
- [81] T.P. Hoar, J.H. Schulman, *Transparent Water-in-Oil Dispersions: The Oleopathic Hydro-Micelle*, *Nature* 152 (**1943**) 3847, 102–103.
- [82] J.H. Schulman, W. Stoeckenius, L.M. Prince, *Mechanism of Formation and Structure of Micro Emulsions by Electron Microscopy*, *J. Phys. Chem.* 63 (**1959**) 10, 1677–1680.
- [83] P.A. Lovell, M.S. El-Aasser (Eds.), *Emulsion polymerization and emulsion polymers*, J. Wiley, Chichester, **1997**.
- [84] K. Landfester, *The Generation of Nanoparticles in Miniemulsions*, *Adv. Mater.* 13 (**2001**) 10, 765–768.
- [85] K. Landfester, N. Bechthold, F. Tiarks, M. Antonietti, *Formulation and Stability Mechanisms of Polymerizable Miniemulsions: Macromolecules*, *Macromolecules* 32 (**1999**) 16, 5222–5228.
- [86] K. Fontenot, F.J. Schork, *Batch polymerization of methyl methacrylate in mini/macroemulsions*, *J. Appl. Polym. Sci.* 49 (**1993**) 4, 633–655.
- [87] J. Reimers, F.J. Schork, *Miniemulsion Copolymerization Using Water-Insoluble Comonomers as Cosurfactants*, *Polymer Reaction Engineering* 4 (**1996**) 2-3, 135–152.
- [88] C. Chern, T. Chen, *Effect of Ostwald ripening on styrene miniemulsion stabilized by reactive cosurfactants*, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 138 (**1998**) 1, 65–74.
- [89] W.I. Higuchi, J. Misra, *Physical Degradation of Emulsions Via the Molecular Diffusion Route and the Possible Prevention Thereof*, *Journal of pharmaceutical sciences* 51 (**1962**) 5, 459–466.
- [90] N. Bechthold, *Polymerisation in Miniemulsion. Dissertation*, Potsdam, **2000**.
- [91] C. Marangoni, *Ueber die Ausbreitung der Tropfen einer Flüssigkeit auf der Oberfläche einer anderen*, *Ann. Phys. Chem.* 219 (**1871**) 7, 337–354.

-
- [92] R. Heusch, *Elementarprozesse bei der Herstellung und Stabilisierung von Emulsionen*, Chemie Ingenieur Technik 55 (**1983**) 8, 608–616.
 - [93] A.R.M. Azad, R.M. Fitch, *Particle Size Distributions in Suspension Polymerizations: Effect of Added Low Molecular Weight Compounds*, in: R.M. Fitch (Ed.), *Polymer Colloids II*, Springer US, Boston, MA, **1980**, 95–119.
 - [94] A.J. Webster, M.E. Cates, *Stabilization of Emulsions by Trapped Species*, Langmuir 14 (**1998**) 8, 2068–2079.
 - [95] N.M. Steiert, *Reaktionen im begrenzten Raum zur Herstellung und Verkapselung von Pigmenten. Dissertation*, Ulm, **2008**.
 - [96] C. Bondy, K. Söllner, *On the mechanism of emulsification by ultrasonic waves*, Trans. Faraday Soc. 31 (**1935**) 835–843.
 - [97] T.J. Mason, *Special issue on sonochemistry*, Ultrasonics 30 (**1992**) 3, 147.
 - [98] W. Lauterborn, C.-D. Ohl, *Cavitation bubble dynamics*, Ultrasonics sonochemistry 4 (**1997**) 2, 65–75.
 - [99] Institut für Partikeltechnik, *Hochdruckhomogenisator*, 2015, <https://www.ipat.tu-bs.de/de/forschung/ausstattung/mechanische-biotechnologie/mechanische-biotechnologie/hochdruckhomogenisatorhochdruckhomogenisator>, accessed 10 November 2018 um 18:59 Uhr.
 - [100] Benjamin Autenrieth, *Mikroreaktortechnik für Miniemulsionen und Herstellung fluoreszierender Polymernanopartikel mit Hilfe der Miniemulsionspolymerisation: Diplomarbeit*, Ulm, **2009**.
 - [101] K.B. Sutradhar, M.L. Amin, *Nanoemulsions: Increasing possibilities in drug delivery*, European Journal of Nanomedicine 5 (**2013**) 2,
 - [102] R.H. Müller, B.H. Böhm, M.J. Grau, *Nanosuspensionen - Formulierungen für schwerlösliche Arzneistoffe mit geringer Bioverfügbarkeit: 1. Mitteilung: Herstellung und Eigenschaften*, Die Pharmazeutische Industrie, 1999, 74–78.
 - [103] U. Lambrich, H. Schubert, *Emulsification using microporous systems*, Journal of Membrane Science 257 (**2005**) 1-2, 76–84.
 - [104] T. Nakashima, M. Shimizu, M. Kukizaki, *Membrane Emulsification by Microporous Glass*, KEM 61-62 (**1992**) 513–516.
 - [105] H.P. Schuchmann, T. Danner, *Emulgieren: Mehr als nur Zerkleinern*, Chemie Ingenieur Technik 76 (**2004**) 4, 364–375.
 - [106] H. Schubert (Ed.), *Emulgiertechnik: Grundlagen, Verfahren und Anwendungen*, 2nd ed., Behr, Hamburg, **2010**.
 - [107] M. Rudolph, *Herstellung von Polymerpartikeln mit unterschiedlicher Morphologie mittels SPG-Membranemulgierung. Bachelorarbeit*, Kaiserslautern, **2018**.
 - [108] U. Lambrich, G.T. Vladislavljevic, *Emulgieren mit mikrostrukturierten Systemen*, Chemie Ingenieur Technik 76 (**2004**) 4, 376–383.

-
- [109] S. Joseph, H. Bunjes, *Evaluation of Shirasu Porous Glass (SPG) membrane emulsification for the preparation of colloidal lipid drug carrier dispersions*, European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics official journal of Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V 87 (2014) 1, 178–186.
- [110] K. Winnacker, L. Küchler, R. Dittmeyer, *Chemische Technik: Prozesse und Produkte*, 5th ed., Wiley-VCH, Weinheim, 2004.
- [111] B. Autenrieth, *Mikroreaktortechnik für Miniemulsionen und Herstellung fluoreszierender Polymernanopartikel mit Hilfe der Miniemulsionspolymerisation*. Diplomarbeit, Ulm, 2009.
- [112] V. Hessel, H. Löwe, F. Schönfeld, *Micromixers - a review on passive and active mixing principles*, Chemical Engineering Science 60 (2005) 8-9, 2479–2501.
- [113] V. Hessel, S. Hardt, H. Löwe, *Chemical micro process engineering*, Wiley-VCH, Weinheim, 2005.
- [114] K. Jähnisch, V. Hessel, H. Löwe, M. Baerns, *Chemistry in microstructured reactors*, Angewandte Chemie (International ed. in English) 43 (2004) 4, 406–446.
- [115] T. Schwalbe, V. Autze, M. Hohmann, W. Stirner, *Novel Innovation Systems for a Cellular Approach to Continuous Process Chemistry from Discovery to Market*, Org. Process Res. Dev. 8 (2004) 3, 440–454.
- [116] R. Thiermann, *Selbstorganisation amphiphiler Block-Copolymere in Mikromischern*. Dissertation, Berlin, 2014.
- [117] K. Yube, K. Mae, *Efficient Oxidation of Aromatics with Peroxides under Severe Conditions Using a Microreaction System*, Chem. Eng. Technol. 28 (2005) 3, 331–336.
- [118] K. Jähnisch, M. Baerns, V. Hessel, W. Ehrfeld, et al., *Direct fluorination of toluene using elemental fluorine in gas/liquid microreactors*, Journal of Fluorine Chemistry 105 (2000) 1, 117–128.
- [119] H. Löwe, W. Ehrfeld, V. Hessel, T. Richter, J. Schiewe (Eds.), *Micromixing technology*, AIChE Topical Conference Proceedings, 2000.
- [120] R. Bleul, *Herstellung, Charakterisierung und Funktionalisierung polymerer Nanopartikel und Untersuchung der Wechselwirkungen mit biologischen Systemen*. Dissertation, Berlin, 2014.
- [121] J. Choe, I.-H. Song, J.H. Kim, S.G. Lee, et al., *Gas/liquid dispersion in a sequential split micromixer*, Journal of Industrial and Engineering Chemistry 14 (2008) 2, 161–165.
- [122] *Caterpillar Micromixer: CPMM-V1.2 Group Class-R150, -R300, -R600, -R1200, -R2400*, in: Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH (Ed.), *The catalogue: chemical micro process technology made by IMM*, Mainz, 2009, 46–49.
- [123] V. Hessel, S. Hardt, H. Löwe, F. Schönfeld, *Laminar mixing in different interdigital micromixers: I. Experimental characterization*, AIChE J. 49 (2003) 3, 566–577.
- [124] W. Ehrfeld, K. Golbig, V. Hessel, H. Löwe, T. Richter, *Characterization of Mixing in Micromixers by a Test Reaction: Single Mixing Units and Mixer Arrays*, Ind. Eng. Chem. Res. 38 (1999) 3, 1075–1082.
- [125] P. Löb, H. Pennemann, V. Hessel, *g/l-Dispersion in interdigital micromixers with different mixing chamber geometries*, Chemical Engineering Journal 101 (2004) 1-3, 75–85.

-
- [126] V. Haverkamp, W. Ehrfeld, K. Gebauer, V. Hessel, et al., *The potential of micromixers for contacting of disperse liquid phases*, Fresenius' Journal of Analytical Chemistry 364 (**1999**) 7, 617–624.
 - [127] *Slit Interdigital Micromixer: SIMM Group, SIMM-V2, HPIMM, SIMHEX, SSIMM*, in: Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH (Ed.), The catalogue: chemical micro process technology made by IMM, Mainz, **2009**, 54–57.
 - [128] K.Y. Choi, G. Liu, S. Lee, X. Chen, *Theranostic nanoplateforms for simultaneous cancer imaging and therapy: Current approaches and future perspectives*, Nanoscale 4 (**2012**) 2, 330–342.
 - [129] T. Lammers, S. Aime, W.E. Hennink, G. Storm, F. Kiessling, *Theranostic nanomedicine*, Accounts of chemical research 44 (**2011**) 10, 1029–1038.
 - [130] G. Schmid (Ed.), *Nanoparticles: From theory to application*, 2nd ed., Wiley-VCH, Weinheim, **2010**.
 - [131] R.M. Cornell, U. Schwertmann, *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurences and Uses*, Wiley-VCH GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2003**.
 - [132] R. Massart, *Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media*, IEEE Trans. Magn. 17 (**1981**) 2, 1247–1248.
 - [133] S. Behrens, *Preparation of functional magnetic nanocomposites and hybrid materials: Recent progress and future directions*, Nanoscale 3 (**2011**) 3, 877–892.
 - [134] T. Hyeon, S.S. Lee, J. Park, Y. Chung, H.B. Na, *Synthesis of Highly Crystalline and Monodisperse Maghemite Nanocrystallites without a Size-Selection Process*, J. Am. Chem. Soc. 123 (**2001**) 51, 12798–12801.
 - [135] Y. Yin, A.P. Alivisatos, *Colloidal nanocrystal synthesis and the organic-inorganic interface*, Nature 437 (**2005**) 7059, 664–670.
 - [136] N.R. Jana, Y. Chen, X. Peng, *Size- and Shape-Controlled Magnetic (Cr, Mn, Fe, Co, Ni) Oxide Nanocrystals via a Simple and General Approach*, Chem. Mater. 16 (**2004**) 20, 3931–3935.
 - [137] S. Sun, H. Zeng, *Size-Controlled Synthesis of Magnetite Nanoparticles*, J. Am. Chem. Soc. 124 (**2002**) 28, 8204–8205.
 - [138] J. Park, K. An, Y. Hwang, J.-G. Park, et al., *Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals*, Nature materials 3 (**2004**) 12, 891–895.
 - [139] K. Inouye, R. Endo, Y. Otsuka, K. Miyashiro, et al., *Oxygenation of ferrous ions in reversed micelle and reversed microemulsion*, J. Phys. Chem. 86 (**1982**) 8, 1465–1469.
 - [140] E. Riedel, H.-J. Meyer, *Allgemeine und anorganische Chemie*, 12th ed., De Gruyter, Berlin, Boston, **2018**.
 - [141] S. Schamber, *Magnetische Multischalenpartikel für den Transport von siRNA. Dissertation*, Mainz, **2015**.
 - [142] A.F. Holleman, E. Wiberg, N. Wiberg, G. Fischer, *Anorganische Chemie*, De Gruyter, Berlin, Boston, **2017**.
 - [143] O. Philippova, A. Barabanova, V. Molchanov, A. Khokhlov, *Magnetic polymer beads: Recent trends and developments in synthetic design and applications*, European Polymer Journal 47 (**2011**) 4, 542–559.

-
- [144] Q.A. Pankhurst, J. Connolly, S.K. Jones, J. Dobson, *Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine*, J. Phys. D: Appl. Phys. 36 (2003) 13, R167-R181.
 - [145] Y.X. Wang, S.M. Hussain, G.P. Krestin, *Superparamagnetic iron oxide contrast agents: Physicochemical characteristics and applications in MR imaging*, European radiology 11 (2001) 11, 2319–2331.
 - [146] M. Colombo, S. Carregal-Romero, M.F. Casula, L. Gutiérrez, et al., *Biological applications of magnetic nanoparticles*, Chemical Society reviews 41 (2012) 11, 4306–4334.
 - [147] L. Cademartiri, G.A. Ozin, J.-M. Lehn, *Concepts of nanochemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2009.
 - [148] S.R. Dave, X. Gao, *Monodisperse magnetic nanoparticles for biodetection, imaging, and drug delivery: A versatile and evolving technology*, Wiley interdisciplinary reviews. Nanomedicine and nanobiotechnology 1 (2009) 6, 583–609.
 - [149] R.E. Rosensweig, *Heating magnetic fluid with alternating magnetic field*, Journal of Magnetism and Magnetic Materials 252 (2002) 370–374.
 - [150] L.P. Ramírez, K. Landfester, *Magnetic Polystyrene Nanoparticles with a High Magnetite Content Obtained by Miniemulsion Processes*, Macromol. Chem. Phys. 204 (2003) 1, 22–31.
 - [151] S.W. Charles, J. Popplewell, *Properties and applications of magnetic liquids*, Endeavour 6 (1982) 4, 153–161.
 - [152] C.C. Berry, A.S.G. Curtis, *Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine*, J. Phys. D: Appl. Phys. 36 (2003) 13, R198-R206.
 - [153] U. Schroeder, P. Sommerfeld, S. Ulrich, B.A. Sabel, *Nanoparticle technology for delivery of drugs across the blood-brain barrier*, Journal of pharmaceutical sciences 87 (1998) 11, 1305–1307.
 - [154] M. Urban, *Bioabbaubare funktionalisierte fluoreszierende und superparamagnetische Polymernanopartikel. Dissertation*, Ulm, 2010.
 - [155] S. Bantle, M. Schmidt, W. Burchard, *Simultaneous static and dynamic light scattering*, Macromolecules 15 (1982) 6, 1604–1609.
 - [156] F. Rayleigh, XXXIV. *On the transmission of light through an atmosphere containing small particles in suspension, and on the origin of the blue of the sky*, The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science 47 (1899) 287, 375–384.
 - [157] M. v. Smoluchowski, *Molekular-kinetische Theorie der Opaleszenz von Gasen im kritischen Zustande, sowie einiger verwandter Erscheinungen*, Ann. Phys. 330 (1908) 2, 205–226.
 - [158] A. Einstein, *Theorie der Opaleszenz von homogenen Flüssigkeiten und Flüssigkeitsgemischen in der Nähe des kritischen Zustandes*, Ann. Phys. 338 (1910) 16, 1275–1298.
 - [159] P. Debye, *Molecular-weight Determination by Light Scattering*, J. Phys. Chem. 51 (1947) 1, 18–32.
 - [160] W. Schärtl, *Light scattering from polymer solutions and nanoparticle dispersions: With 16 tables*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2007.
 - [161] J.J. Cornelissen, J.J. Donners, R. de Gelder, W.S. Graswinckel, et al., *beta -Helical polymers from isocyanopeptides*, Science (New York, N.Y.) 293 (2001) 5530, 676–680.

-
- [162] Helmholtz Zentrum Dresden Rossendorf, *Das Transmissionselektronenmikroskop (TEM)*, <https://www.hzdr.de/db/Cms?pOid=23344&pNid=0>, accessed 13 March 2018Uhr.
 - [163] Oluschinski, *Transmissionselektronenmikroskopie: Lexikon der Kunststoffprüfung*, **2017**, <http://wiki.polymerservice-merseburg.de/index.php/Transmissionselektronenmikroskopie>, accessed 13 March 2018Uhr.
 - [164] R. Winter, F. Noll, C. Czeslik, *Methoden der biophysikalischen Chemie*, 2nd ed., Vieweg + Teubner, Wiesbaden, **2011**.
 - [165] H. Vogel, *Gerthsen Physik*, 18th ed., Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, s.l., **1995**.
 - [166] Mettler-Toledo AG, *Bedienungsanleitung DE40/DE45/DE51 Dichtemessgerät*, 4th ed., 2002.
 - [167] Institut de Biologie Structurale, *Jablonski-Diagramm*, <http://www.ibs.fr/IMG/png/jablsmall-2.png>, accessed 14 February 2018.
 - [168] *Römpp kompakt Basislexikon Chemie*, Thieme, Stuttgart, New York, **1999**.
 - [169] F. Petzke, *Praktikums-Skript Spektroskopie*, Mainz, **2003**.
 - [170] F. Lottspeich, *Bioanalytik*, 3rd ed., Springer, Heidelberg, **2012**.
 - [171] M. Minsky, *Microscopy Apparatus*, 1957.
 - [172] S. von Bomhard, K.-P. Schelhaas, S. Alebrand, A. Musyanovych, et al., *Selective solvent evaporation from binary mixtures of water and tetrahydrofuran using a falling film microreactor*, Green Processing and Synthesis 6 (**2017**) 4, 403–411.
 - [173] P. Moschou, M. de Croon, J. van der Schaaf, J.C. Schouten, *Nitrogen stripping of isopropyl-alcohol and toluene in a falling film micro reactor: Gas side mass transfer experiments and modelling at isothermal conditions*, Chemical Engineering Science 76 (**2012**) 216–223.
 - [174] P. Moschou, M. de Croon, J. van der Schaaf, J.C. Schouten, *Liquid flow rate effects during partial evaporation in a falling film micro contactor*, Chemical Engineering and Processing: Process Intensification 69 (**2013**) 95–103.
 - [175] P. Chasanis, A. Lautenschleger, E.Y. Kenig, *Numerical investigation of carbon dioxide absorption in a falling-film micro-contactor*, Chemical Engineering Science 65 (**2010**) 3, 1125–1133.
 - [176] A. Kane, H. Monnier, D. Tondeur, L. Falk, *Capability of a falling film microstructured contactor for the separation of binary mixtures*, Chemical Engineering Journal 167 (**2011**) 2-3, 455–467.
 - [177] K.F. Lam, E. Sorensen, A. Gavrilidis, *Review on gas-liquid separations in microchannel devices*, Chemical Engineering Research and Design 91 (**2013**) 10, 1941–1953.
 - [178] J.R. Thome, *Boiling in microchannels: A review of experiment and theory*, International Journal of Heat and Fluid Flow 25 (**2004**) 2, 128–139.
 - [179] S.G. Kandlikar, *Heat transfer and fluid flow in minichannels and microchannels*, 1st ed., Elsevier, Amsterdam, **2006**.
 - [180] D.A. Wenn, J.E.A. Shaw, B. Mackenzie, *A mesh microcontactor for 2-phase reactions*, Lab on a chip 3 (**2003**) 3, 180–186.
 - [181] R.D. Chambers, R.C.H. Spink, *Microreactors for elemental fluorine*, Chem. Commun. (**1999**) 10, 883–884.

-
- [182] J. Yue, G. Chen, Q. Yuan, L. Luo, Y. Gonthier, *Hydrodynamics and mass transfer characteristics in gas–liquid flow through a rectangular microchannel*, Chemical Engineering Science 62 (2007) 7, 2096–2108.
- [183] M. Al-Rawashdeh, V. Hessel, P. Löb, K. Mevissen, F. Schönfeld, *Pseudo 3-D simulation of a falling film microreactor based on realistic channel and film profiles*, Chemical Engineering Science 63 (2008) 21, 5149–5159.
- [184] A. Aota, M. Nonaka, A. Hibara, T. Kitamori, *Countercurrent laminar microflow for highly efficient solvent extraction*, Angewandte Chemie (International ed. in English) 46 (2007) 6, 878–880.
- [185] H. Ehrich, D. Linke, K. Morgenschweis, M. Baerns, K. Jähnisch, *Application of Microstructured Reactor Technology for the Photochemical Chlorination of Alkylaromatics*, CHIMIA 56 (2002) 11, 647–653.
- [186] E. Klemm, G. Mathivanan, T. Schwarz, S. Schirrmeister, *Evaporation of hydrogen peroxide with a microstructured falling film*, Chemical Engineering and Processing: Process Intensification 50 (2011) 10, 1010–1016.
- [187] K.K. Yeong, A. Gavriilidis, R. Zapf, V. Hessel, *Catalyst preparation and deactivation issues for nitrobenzene hydrogenation in a microstructured falling film reactor*, Catalysis Today 81 (2003) 4, 641–651.
- [188] S.H. Cypes, J.R. Engstrom, *Analysis of a toluene stripping process: A comparison between a microfabricated stripping column and a conventional packed tower*, Chemical Engineering Journal 101 (2004) 1-3, 49–56.
- [189] A. Constantinou, F. Ghiotto, K.F. Lam, A. Gavriilidis, *Stripping of acetone from water with microfabricated and membrane gas-liquid contactors*, The Analyst 139 (2014) 1, 266–272.
- [190] V. Hessel, P. Angeli, A. Gavriilidis, H. Löwe, *Gas–Liquid and Gas–Liquid–Solid Microstructured Reactors: Contacting Principles and Applications*, Ind. Eng. Chem. Res. 44 (2005) 25, 9750–9769.
- [191] P. Angeli, A. Gavriilidis, *Hydrodynamics of Taylor flow in small channels: A review*, Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part C: Journal of Mechanical Engineering Science 222 (2008) 5, 737–751.
- [192] T. Wirth (Ed.), *Microreactors in Organic Synthesis and Catalysis*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2008.
- [193] K.K. Yeong, A. Gavriilidis, R. Zapf, H.-J. Kost, et al., *Characterisation of liquid film in a microstructured falling film reactor using laser scanning confocal microscopy*, Experimental Thermal and Fluid Science 30 (2006) 5, 463–472.
- [194] H. Zhang, J. Yue, G. Chen, Q. Yuan, *Flow pattern and break-up of liquid film in single-channel falling film microreactors*, Chemical Engineering Journal 163 (2010) 1-2, 126–132.
- [195] A.D. Anastasiou, C. Makatsoris, A. Gavriilidis, A.A. Mouza, *Application of μ -PIV for investigating liquid film characteristics in an open inclined microchannel*, Experimental Thermal and Fluid Science 44 (2013) 90–99.
- [196] N. Shao, A. Gavriilidis, P. Angeli, *Flow regimes for adiabatic gas–liquid flow in microchannels*, Chemical Engineering Science 64 (2009) 11, 2749–2761.

-
- [197] C. Wille, *Entwicklung und Charakterisierung eines Mikrofallfilm-Reaktors für stofftransportlimitierte hochexotherme Gas/Flüssig-Reaktionen*. Dissertation, Clausthal, **2000**.
 - [198] Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH (Ed.), *The catalogue: chemical micro process technology made by IMM*, Mainz, **2009**.
 - [199] S. Kalliadasis, C. Ruyer-Quil, B. Scheid, M.G. Velarde, *Falling Liquid Films*, Springer-Verlag London Limited, London, **2012**.
 - [200] F.K. Wasden, A.E. Dukler, *A numerical study of mass transfer in free falling wavy films*, AIChE J. 36 (**1990**) 9, 1379–1390.
 - [201] P. Sobieszuk, R. Pohorecki, P. Cygański, M. Kraut, F. Olschewski, *Marangoni effect in a falling film microreactor*, Chemical Engineering Journal 164 (**2010**) 1, 10–15.
 - [202] Dortmund Data Bank Software & Separation Technology GmbH, *Vapor-Liquid Equilibrium Data of Tetrahydrofuran* + *Water*, <http://www.ddbst.com/en/EED/VLE/VLE%20Tetrahydrofuran%3BWater.php>, accessed 10 May 2016.
 - [203] P. van Male, M. de Croon, R.M. Tiggelaar, A. van den Berg, J.C. Schouten, *Heat and mass transfer in a square microchannel with asymmetric heating*, International Journal of Heat and Mass Transfer 47 (**2004**) 1, 87–99.
 - [204] R. Franke, M. Jucys, P. Löb, A. Rehfinger, *Microreactor - a Key Future Technology: μ.Pro.Chem. - microprocess engineering for process intensification in chemical production*, Elements - Evonik Science Newsletter (**2007**) 20–24.
 - [205] P. Löb, G. Menges, V. Hessel, *Micro Process Engineering for Fine Chemicals: Novel Process Windows, Scale Out and Production-Oriented Case Studies*, La Chimica L'Industria (**2008**) 132–138.
 - [206] B.K. Vankayala, P. Löb, V. Hessel, G. Menges, et al., *Scale-up of process intensifying falling film microreactors to pilot production scale*, International Journal Of Chemical Reactor Engineering 5 (**2007**) A91,
 - [207] J.W. Kwon, Y.K. Han, W.J. Lee, C.S. Cho, et al., *Biocompatibility of poloxamer hydrogel as an injectable intraocular lens: a pilot study*, Journal of cataract and refractive surgery 31 (**2005**) 3, 607–613.
 - [208] D.A. Chiappetta, A. Sosnik, *Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide) block copolymer micelles as drug delivery agents: improved hydrosolubility, stability and bioavailability of drugs*, European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics official journal of Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V 66 (**2007**) 3, 303–317.
 - [209] J.M. Grindel, T. Jaworski, O. Piraner, R.M. Emanuele, M. Balasubramanian, *Distribution, metabolism, and excretion of a novel surface-active agent, purified poloxamer 188, in rats, dogs, and humans*, Journal of pharmaceutical sciences 91 (**2002**) 9, 1936–1947.
 - [210] E.A. Pec, Z.G. Wout, T.P. Johnston, *Biological Activity of Urease Formulated in Poloxamer 407 after Intraperitoneal Injection in the Rat*, Journal of pharmaceutical sciences 81 (**1992**) 7, 626–630.

-
- [211] A.V. Kabanov, P. Lemieux, S. Vinogradov, V. Alakhov, *Pluronic® block copolymers: Novel functional molecules for gene therapy*, *Advanced drug delivery reviews* 54 (**2002**) 2, 223–233.
 - [212] P. Alexandridis, V. Athanassiou, S. Fukuda, T.A. Hatton, *Surface Activity of Poly(ethylene oxide)-block-Poly(propylene oxide)-block-Poly(ethylene oxide) Copolymers*, *Langmuir* 10 (**1994**) 8, 2604–2612.
 - [213] P. Alexandridis, J.F. Holzwarth, T.A. Hatton, *Micellization of Poly(ethylene oxide)-Poly(propylene oxide)-Poly(ethylene oxide) Triblock Copolymers in Aqueous Solutions: Thermodynamics of Copolymer Association*, *Macromolecules* 27 (**1994**) 9, 2414–2425.
 - [214] S.D. Singh-Joy, V.C. McLain, *Safety assessment of poloxamers 101, 105, 108, 122, 123, 124, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 212, 215, 217, 231, 234, 235, 237, 238, 282, 284, 288, 331, 333, 334, 335, 338, 401, 402, 403, and 407, poloxamer 105 benzoate, and poloxamer 182 dibenzoate as used in cosmetics*, *International journal of toxicology* 27 Suppl 2 (**2008**) 93–128.
 - [215] K. McKeage, A.J. Wagstaff, *Subcutaneous Interferon- γ : γ -1a*, *CNS Drugs* 21 (**2007**) 10, 871–876.
 - [216] B. Petri, A. Bootz, A. Khalansky, T. Hekmatara, et al., *Chemotherapy of brain tumour using doxorubicin bound to surfactant-coated poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles: revisiting the role of surfactants*, *Journal of controlled release official journal of the Controlled Release Society* 117 (**2007**) 1, 51–58.
 - [217] R. Barreiro-Iglesias, L. Bromberg, M. Temchenko, T.A. Hatton, et al., *Solubilization and stabilization of camptothecin in micellar solutions of pluronic-g-poly(acrylic acid) copolymers*, *Journal of controlled release official journal of the Controlled Release Society* 97 (**2004**) 3, 537–549.
 - [218] A.V. Kabanov, V.Y. Alakhov, *Pluronic® Block Copolymers in Drug Delivery: from Micellar Nanocontainers to Biological Response Modifiers*, *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 19 (**2002**) 1, 1–72.
 - [219] D.f.E. Wikipedia, *Poloxamere*, **2016**, <https://de.wikipedia.org/w/index.php?oldid=132778202>, accessed 1 August 2016.
 - [220] S.S. Kulthe, N.N. Inamdar, Y.M. Choudhari, S.M. Shirolkar, et al., *Mixed micelle formation with hydrophobic and hydrophilic Pluronic block copolymers: implications for controlled and targeted drug delivery*, *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces* 88 (**2011**) 2, 691–696.
 - [221] P. Linse, *Micellization of poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide) block copolymers in aqueous solution*, *Macromolecules* 26 (**1993**) 17, 4437–4449.
 - [222] BASF SE, *Burst® EP 121Block Copolymer Surfactant: Technical Bulletin*, **2012**, http://worldaccount.basf.com/wa/NAFTA~en_US/Catalog/WaterSolutions/doc4/BASF/PRD/30559952/.pdf?urn=urn:documentum:eCommerce_sol_EU:09007bb2800a1e25.pdf.
 - [223] B.M. Discher, Y.-Y. Won, D.S. Ege, J.C.-M. Lee, et al., *Polymersomes Tough Vesicles Made from Diblock Copolymers*, *Science* 284 (**1999**) 5417, 1143–1146.
 - [224] R.P. Brinkhuis, F.P.J.T. Rutjes, J.C.M. van Hest, *Polymeric vesicles in biomedical applications*, *Polym. Chem.* 2 (**2011**) 7, 1449.
 - [225] K. Kita-Tokarczyk, J. Grumelard, T. Haefele, W. Meier, *Block copolymer vesicles—using concepts from polymer chemistry to mimic biomembranes*, *Polymer* 46 (**2005**) 11, 3540–3563.

-
- [226] R.L.A. David, J.A. Kornfield, *Facile, Efficient Routes to Diverse Protected Thiols and to Their Deprotection and Addition to Create Functional Polymers by Thiol–Ene Coupling*, *Macromolecules* 41 (2008) 4, 1151–1161.
- [227] J.P. Reeves, R.M. Dowben, *Formation and properties of thin-walled phospholipid vesicles*, *Journal of cellular physiology* 73 (1969) 1, 49–60.
- [228] A.T. Nikova, V.D. Gordon, G. Cristobal, M.R. Talingting, et al., *Swollen Vesicles and Multiple Emulsions from Block Copolymers*, *Macromolecules* 37 (2004) 6, 2215–2218.
- [229] H.R. Marsden, C.B. Quer, E.Y. Sanchez, L. Gabrielli, et al., *Detergent-aided polymersome preparation*, *Biomacromolecules* 11 (2010) 4, 833–838.
- [230] W. Mueller, K. Koynov, K. Fischer, S. Hartmann, et al., *Hydrophobic Shell Loading of PB-b-PEO Vesicles*, *Macromolecules* 42 (2009) 1, 357–361.
- [231] L. Luo, A. Eisenberg, *Thermodynamic Stabilization Mechanism of Block Copolymer Vesicles*, *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001) 5, 1012–1013.
- [232] K. Bryskhe, J. Jansson, D. Topgaard, K. Schillén, U. Olsson, *Spontaneous Vesicle Formation in a Block Copolymer System*, *J. Phys. Chem. B* 108 (2004) 28, 9710–9719.
- [233] K. Schillén, K. Bryskhe, Y.S. Mel'nikova, *Vesicles Formed from a Poly(ethylene oxide)–Poly(propylene oxide)–Poly(ethylene oxide) Triblock Copolymer in Dilute Aqueous Solution*, *Macromolecules* 32 (1999) 20, 6885–6888.
- [234] T. Foster, K.D. Dorfman, H.T. Davis, *Rapid ejection of giant Pluronic L121 vesicles from spreading double emulsion droplets*, *Langmuir the ACS journal of surfaces and colloids* 26 (2010) 12, 9666–9672.
- [235] F. Li, L.H.J. de Haan, A.T.M. Marcelis, F.A.M. Leermakers, et al., *Pluronic polymersomes stabilized by core cross-linked polymer micelles*, *Soft Matter* 5 (2009) 20, 4042.
- [236] W. Müller, M. Maskos, D. Metzke, P. Löb, *Synthesis of block copolymer vesicles in a micromixer*, *La Houille Blanche* (2009) 6, 125–128.
- [237] R. Bleul, R. Thiermann, G.U. Marten, M.J. House, et al., *Continuously manufactured magnetic polymersomes--a versatile tool (not only) for targeted cancer therapy*, *Nanoscale* 5 (2013) 23, 11385–11393.
- [238] R. Bleul, S. von Bomhard, R. Thiermann, G.U. Marten, M.J. House, T.G. St Pierre, U.O. Häfeli, M. Maskos (Eds.), *Continuously manufactured magnetic polymersomes - smart nanocarriers for theranostic applications*, 2014.
- [239] R. Bleul, R. Thiermann, K. Saatchi, U.O. Häfeli, M. Maskos, *Multifunctional nanocarriers for biomedical applications*, in: W.J. Parak, M. Osinski, K. Yamamoto (Eds.), *SPIE BiOS, SPIE*, 2013, 85951N.
- [240] W.D. BASF, *BASF Medizinische Leitlinien bei akuten Einwirkungen von chemischen Substanzen: Tetrahydrofuran (C₄H₈O): Informationen und Empfehlungen für Rettungsassistenten/Notärzte/Ärzte vor Ort B1 - B4*.
- [241] Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH (Ed.), *The catalogue: chemical micro process technology made by IMM, Mainz*, 2009.

-
- [242] *Falling film microreactor: FFMR group*, in: Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH (Ed.), The catalogue: chemical micro process technology made by IMM, Mainz, **2009**, 64–67.
- [243] B. Gupta, N. Revagade, J. Hilborn, *Poly(lactic acid) fiber: An overview*, Progress in Polymer Science 32 (**2007**) 4, 455–482.
- [244] A. Abe, A.-C. Albertsson, H.-J. Cantow, K. Dušek, et al., *Degradable Aliphatic Polyesters*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2002**.
- [245] S. Mecking, *Biologisch abbaubare Werkstoffe– Natur oder Petrochemie?*, Angew. Chem. 116 (**2004**) 9, 1096–1104.
- [246] E. Sah, H. Sah, *Recent Trends in Preparation of Poly(lactide-co-glycolide) Nanoparticles by Mixing Polymeric Organic Solution with Antisolvent*, Journal of Nanomaterials 2015 (**2015**) 2, 1–22.
- [247] Y. Nie, Z.-R. Zhang, B. He, Z. Gu, *Investigation of PEG-PLGA-PEG nanoparticles-based multipolyplexes for IL-18 gene delivery*, Journal of biomaterials applications 26 (**2012**) 8, 893–916.
- [248] I. Bala, S. Hariharan, M.R. Kumar, *PLGA Nanoparticles in Drug Delivery: The State of the Art*, Crit Rev Ther Drug Carrier Syst 21 (**2004**) 5, 387–422.
- [249] N. Anton, J.-P. Benoit, P. Saulnier, *Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates-a review*, Journal of controlled release official journal of the Controlled Release Society 128 (**2008**) 3, 185–199.
- [250] H. Fessi, F. Puisieux, J. Devissaguet, N. Ammoury, S. Benita, *Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement*, International journal of pharmaceutics 55 (**1989**) 1, R1-R4.
- [251] R. Dinarvand, N. Sepehri, S. Manoochehri, H. Rouhani, F. Atyabi, *Poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles for controlled delivery of anticancer agents*, International journal of nanomedicine 6 (**2011**) 877–895.
- [252] F. Ganachaud, J.L. Katz, *Nanoparticles and nanocapsules created using the Ouzo effect: spontaneous emulsification as an alternative to ultrasonic and high-shear devices*, Chemphyschem a European journal of chemical physics and physical chemistry 6 (**2005**) 2, 209–216.
- [253] S.A. Vitale, J.L. Katz, *Liquid Droplet Dispersions Formed by Homogeneous Liquid–Liquid Nucleation: “The Ouzo Effect”*, Langmuir 19 (**2003**) 10, 4105–4110.
- [254] K. Landfester, A. Musyanovych, V. Mailänder, *From polymeric particles to multifunctional nanocapsules for biomedical applications using the miniemulsion process*, J. Polym. Sci. A Polym. Chem. 48 (**2010**) 3, 493–515.
- [255] A. Musyanovych, J. Schmitz-Wienke, V. Mailänder, P. Walther, K. Landfester, *Preparation of biodegradable polymer nanoparticles by miniemulsion technique and their cell interactions*, Macromolecular bioscience 8 (**2008**) 2, 127–139.
- [256] R.H. Staff, K. Landfester, D. Crespy, *Recent Advances in the Emulsion Solvent Evaporation Technique for the Preparation of Nanoparticles and Nanocapsules*, in: V. Percec (Ed.), Hierarchical Macromolecular Structures: 60 Years after the Staudinger Nobel Prize II, Springer International Publishing, Cham, **2013**, 329–344.

-
- [257] M. Urban, B. Freisinger, O. Ghazy, R. Staff, et al., *Polymer Janus Nanoparticles with Two Spatially Segregated Functionalizations*, *Macromolecules* 47 (**2014**) 20, 7194–7199.
 - [258] S. Freitas, H.P. Merkle, B. Gander, *Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology*, *Journal of controlled release official journal of the Controlled Release Society* 102 (**2005**) 2, 313–332.
 - [259] J.P. Rao, K.E. Geckeler, *Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters*, *Progress in Polymer Science* 36 (**2011**) 7, 887–913.
 - [260] J.M. Asua, *Emulsion polymerization: From fundamental mechanisms to process developments*, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* 42 (**2004**) 5, 1025–1041.
 - [261] C.S. Chern, *Emulsion polymerization mechanisms and kinetics*, *Progress in Polymer Science* 31 (**2006**) 5, 443–486.
 - [262] D. Crespy, K. Landfester, *Miniemulsion polymerization as a versatile tool for the synthesis of functionalized polymers*, *Beilstein journal of organic chemistry* 6 (**2010**) 1132–1148.
 - [263] F.M. Pavel, *Microemulsion Polymerization*, *Journal of Dispersion Science and Technology* 25 (**2004**) 1, 1–16.
 - [264] C.P. Yong, L.M. Gan, *Microemulsion Polymerizations and Reactions*, in: M. Ōkubo, A. Butté (Eds.), *Polymer particles*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2005**, 257–298.
 - [265] G.W. Burton, C.P. O'Farrell, *Preparation of artificial Latexes*, *Journal of Elastomers & Plastics* 9 (**1977**) 94–101.
 - [266] D. Quintanar-Guerrero, E. Allemann, H. Fessi, E. Doelker, *Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers*, *Drug development and industrial pharmacy* 24 (**1998**) 12, 1113–1128.
 - [267] S. Freiberg, X.X. Zhu, *Polymer microspheres for controlled drug release*, *International journal of pharmaceutics* 282 (**2004**) 1-2, 1–18.
 - [268] P.B. O'Donnell, J.W. McGinity, *Preparation of microspheres by the solvent evaporation technique*, *Advanced drug delivery reviews* 28 (**1997**) 1, 25–42.
 - [269] A. Taden, K. Landfester, *Crystallization of Poly(ethylene oxide) Confined in Miniemulsion Droplets*, *Macromolecules* 36 (**2003**) 11, 4037–4041.
 - [270] R. Atkin, P. Davies, J. Hardy, B. Vincent, *Preparation of Aqueous Core/Polymer Shell Microcapsules by Internal Phase Separation*, *Macromolecules* 37 (**2004**) 21, 7979–7985.
 - [271] D. Crespy, K. Landfester, *Making dry fertile: A practical tour of non-aqueous emulsions and miniemulsions, their preparation and some applications*, *Soft Matter* 7 (**2011**) 23, 11054.
 - [272] J. Fujiyama, Y. Nakase, K. Osaki, C. Sakakura, et al., *Cisplatin incorporated in microspheres: Development and fundamental studies for its clinical application*, *Journal of Controlled Release* 89 (**2003**) 3, 397–408.
 - [273] Z. Mana, Y. Pellequer, A. Lamprecht, *Oil-in-oil microencapsulation technique with an external perfluorohexane phase*, *International journal of pharmaceutics* 338 (**2007**) 1-2, 231–237.

-
- [274] D. Crespy, K. Landfester, *Preparation of Nylon 6 Nanoparticles and Nanocapsules by Two Novel Miniemulsion/Solvent Displacement Hybrid Techniques*, *Macromol. Chem. Phys.* 208 (2007) 5, 457–466.
- [275] C. Nouvel, J. Raynaud, E. Marie, E. Dellacherie, et al., *Biodegradable nanoparticles made from polylactide-grafted dextran copolymers*, *Journal of Colloid and Interface Science* 330 (2009) 2, 337–343.
- [276] C.-H. Chu, Y.-C. Wang, H.-Y. Huang, L.-C. Wu, C.-S. Yang, *Ultrafine PEG-coated poly(lactic- co - glycolic acid) nanoparticles formulated by hydrophobic surfactant-assisted one-pot synthesis for biomedical applications*, *Nanotechnology* 22 (2011) 18, 185601.
- [277] T. Kietzke, D. Neher, K. Landfester, R. Montenegro, et al., *Novel approaches to polymer blends based on polymer nanoparticles*, *Nature materials* 2 (2003) 6, 408–412.
- [278] R.H. Staff, M. Gallei, M. Mazurowski, M. Rehahn, et al., *Patchy nanocapsules of poly(vinylferrocene)-based block copolymers for redox-responsive release*, *ACS nano* 6 (2012) 10, 9042–9049.
- [279] M. Urban, A. Musyanovych, K. Landfester, *Fluorescent Superparamagnetic Polylactide Nanoparticles by Combination of Miniemulsion and Emulsion/Solvent Evaporation Techniques*, *Macromol. Chem. Phys.* 210 (2009) 11, 961–970.
- [280] C. Perez, A. Sanchez, D. Putnam, D. Ting, et al., *Poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol) nanoparticles as new carriers for the delivery of plasmid DNA*, *Journal of Controlled Release* 75 (2001) 1-2, 211–224.
- [281] E. Pisani, N. Tsapis, J. Paris, V. Nicolas, et al., *Polymeric nano/microcapsules of liquid perfluorocarbons for ultrasonic imaging: physical characterization*, *Langmuir the ACS journal of surfaces and colloids* 22 (2006) 9, 4397–4402.
- [282] E. Pisani, N. Tsapis, B. Galaz, M. Santin, et al., *Perfluorooctyl Bromide Polymeric Capsules as Dual Contrast Agents for Ultrasonography and Magnetic Resonance Imaging*, *Adv. Funct. Mater.* 18 (2008) 19, 2963–2971.
- [283] C. Wohnhaas, K. Friedemann, D. Busko, K. Landfester, et al., *All Organic Nanofibers As Ultralight Versatile Support for Triplet–Triplet Annihilation Upconversion*, *ACS Macro Lett.* 2 (2013) 5, 446–450.
- [284] Y. Zhao, J. Fickert, K. Landfester, D. Crespy, *Encapsulation of self-healing agents in polymer nanocapsules*, *Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* 8 (2012) 19, 2954–2958.
- [285] J. Fickert, C. Wohnhaas, A. Turshatov, K. Landfester, D. Crespy, *Copolymers Structures Tailored for the Preparation of Nanocapsules*, *Macromolecules* 46 (2013) 3, 573–579.
- [286] N. Saito, Y. Kagari, M. Okubo, *Effect of colloidal stabilizer on the shape of polystyrene/poly(methyl methacrylate) composite particles prepared in aqueous medium by the solvent evaporation method*, *Langmuir the ACS journal of surfaces and colloids* 22 (2006) 22, 9397–9402.
- [287] T. Tanaka, R. Nakatsuru, Y. Kagari, N. Saito, M. Okubo, *Effect of Molecular Weight on the Morphology of Polystyrene/Poly(methyl methacrylate) Composite Particles Prepared by the Solvent Evaporation Method*, *Langmuir* 24 (2008) 21, 12267–12271.

- [288] T. Tanaka, M. Okayama, Y. Kitayama, Y. Kagawa, M. Okubo, *Preparation of "mushroom-like" Janus particles by site-selective surface-initiated atom transfer radical polymerization in aqueous dispersed systems*, Langmuir the ACS journal of surfaces and colloids 26 (2010) 11, 7843–7847.
- [289] T. Higuchi, K. Motoyoshi, H. Sugimori, H. Jinnai, et al., *Phase transition and phase transformation in block copolymer nanoparticles*, Macromolecular rapid communications 31 (2010) 20, 1773–1778.
- [290] M. Okubo, N. Saito, R. Takekoh, H. Kobayashi, *Morphology of polystyrene/polystyrene-block-poly(methyl methacrylate)/poly(methyl methacrylate) composite particles*, Collected papers from PDM 2004. Polymers in Dispersed Media - Colloids: from Preparation to Application 46 (2005) 4, 1151–1156.
- [291] T. Tanaka, N. Saito, M. Okubo, *Control of Layer Thickness of Onionlike Multilayered Composite Polymer Particles Prepared by the Solvent Evaporation Method*, Macromolecules 42 (2009) 19, 7423–7429.
- [292] S.-J. Jeon, G.-R. Yi, C.M. Koo, S.-M. Yang, *Nanostructures Inside Colloidal Particles of Block Copolymer/Homopolymer Blends*, Macromolecules 40 (2007) 23, 8430–8439.
- [293] R.H. Staff, P. Rupper, I. Lieberwirth, K. Landfester, D. Crespy, *Phase behavior of binary mixtures of block copolymers and a non-solvent in miniemulsion droplets as single and double nanoconfinement*, Soft Matter 7 (2011) 21, 10219.
- [294] R.M. Mainardes, R.C. Evangelista, *Praziquantel-loaded PLGA nanoparticles: preparation and characterization*, Journal of Microencapsulation 22 (2005) 1, 13–24.
- [295] P. Sansdrap, A.J. Moës, *Influence of manufacturing parameters on the size characteristics and the release profiles of nifedipine from poly(DL-lactide-co-glycolide) microspheres*, International journal of pharmaceutics 98 (1993) 1-3, 157–164.
- [296] C.M. Miller, P.J. Blythe, E.D. Sudol, C.A. Silebi, M.S. El-Aasser, *Effect of the presence of polymer in miniemulsion droplets on the kinetics of polymerization*, J. Polym. Sci. A Polym. Chem. 32 (1994) 12, 2365–2376.
- [297] A. Loxley, B. Vincent, *Preparation of Poly(methylmethacrylate) Microcapsules with Liquid Cores*, Journal of Colloid and Interface Science 208 (1998) 1, 49–62.
- [298] S. Desgouilles, C. Vauthier, D. Bazile, J. Vacus, et al., *The Design of Nanoparticles Obtained by Solvent Evaporation: A Comprehensive Study*, Langmuir 19 (2003) 22, 9504–9510.
- [299] D. Schaeffel, R.H. Staff, H.-J. Butt, K. Landfester, et al., *Fluorescence correlation spectroscopy directly monitors coalescence during nanoparticle preparation*, Nano letters 12 (2012) 11, 6012–6017.
- [300] R.H. Staff, D. Schaeffel, A. Turshatov, D. Donadio, et al., *Particle formation in the emulsion-solvent evaporation process*, Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany) 9 (2013) 20, 3514–3522.
- [301] Y.-C. Chen, V. Dimonie, M.S. El-Aasser, *Particle morphology in artificial composite polymer latex systems*, J. Appl. Polym. Sci. 46 (1992) 4, 691–706.
- [302] C.L. Winzor, D.C. Sundberg, *Conversion dependent morphology predictions for composite emulsion polymers: 2. Artificial latices*, Polymer 33 (1992) 20, 4269–4279.

-
- [303] F. Bai, D. Wang, Z. Huo, W. Chen, et al., *A versatile bottom-up assembly approach to colloidal spheres from nanocrystals*, Angewandte Chemie (International ed. in English) 46 (2007) 35, 6650–6653.
- [304] Z. Lu, Y. Yin, *Colloidal nanoparticle clusters: functional materials by design*, Chemical Society reviews 41 (2012) 21, 6874–6887.
- [305] E. Peng, E.S.G. Choo, P. Chandrasekharan, C.-T. Yang, et al., *Synthesis of manganese ferrite/graphene oxide nanocomposites for biomedical applications*, Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany) 8 (2012) 23, 3620–3630.
- [306] J.W. Park, K.H. Bae, C. Kim, T.G. Park, *Clustered Magnetite Nanocrystals Cross-Linked with PEI for Efficient siRNA Delivery*, Biomacromolecules 12 (2011) 2, 457–465.
- [307] P. Löb, V. Hessel, Y. Men, S. Hollomotz, C. Hofmann, *Flüssig/Flüssig-Dispergierung in verschiedenen Mikromischertypen*, Chemie Ingenieur Technik 78 (2006) 9, 1212.
- [308] S. Hollomotz, *Bericht zum berufspraktischen Semester am Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH in Mainz, Deutschland*, 2006, 1–80.
- [309] F. Schönfeld, V. Hessel, C. Hofmann, *An optimised split-and-recombine micro-mixer with uniform chaotic mixing*, Lab on a chip 4 (2004) 1, 65–69.
- [310] S. Panić, S. Loebbecke, T. Tuercke, J. Antes, D. Bošković, *Experimental approaches to a better understanding of mixing performance of microfluidic devices*, Chemical Engineering Journal 101 (2004) 1-3, 409–419.
- [311] S. Schwolow, J. Hollmann, B. Schenkel, T. Röder, *Application-Oriented Analysis of Mixing Performance in Microreactors*, Org. Process Res. Dev. 16 (2012) 9, 1513–1522.
- [312] F.V. Leimann, L. Cardozo Filho, C. Sayer, P.H.H. Araújo, *Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) nanoparticles prepared by a miniemulsion/solvent evaporation technique: Effect of phbv molar mass and concentration*, Braz. J. Chem. Eng. 30 (2013) 2, 369–377.
- [313] E.T. Baran, N. Ozer, V. Hasirci, *Poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) nanocapsules as enzyme carriers for cancer therapy: an in vitro study*, Journal of Microencapsulation 19 (2002) 3, 363–376.
- [314] M.M. Gaspar, D. Blanco, M.E.M. Cruz, M.J. Alonso, *Formulation of L-asparaginase-loaded poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles: Influence of polymer properties on enzyme loading, activity and in vitro release*, Journal of Controlled Release 52 (1998) 1-2, 53–62.
- [315] P. Mukerjee, K.J. Mysels, *Critical Micelle Concentration of Aqueous Surfactant Systems*, Washington, D.C., 1971.
- [316] C.E. Astete, C.S. Kumar, C.M. Sabliov, *Size control of poly(d,l-lactide-co-glycolide) and poly(d,l-lactide-co-glycolide)-magnetite nanoparticles synthesized by emulsion evaporation technique*, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 299 (2007) 1-3, 209–216.
- [317] P.D. Scholes, A. Coombes, L. Illum, S.S. Daviz, et al., *The preparation of sub-200 nm poly(lactide-co-glycolide) microspheres for site-specific drug delivery*, Journal of Controlled Release 25 (1993) 1-2, 145–153.
- [318] D. Lemoine, V. Pr  at, *Polymeric nanoparticles as delivery system for influenza virus glycoproteins*, Journal of Controlled Release 54 (1998) 1, 15–27.

-
- [319] N. Müller, C. Heinrich, K. Abersfelder, G. Kickelbick, *Janus-Partikel*, Chemie in unserer Zeit 50 (2016) 6, 392–399.
 - [320] C. Casagrande, M. Veyssie, *Janus Beads - Realization and 1st Observation of Interfacial Properties*, Comptes Rendus De L'Academie Des Sciences Serie II 20 (1988) 306, 1423–1425.
 - [321] X. Pang, C. Wan, M. Wang, Z. Lin, *Strictly biphasic soft and hard Janus structures: synthesis, properties, and applications*, Angewandte Chemie (International ed. in English) 53 (2014) 22, 5524–5538.
 - [322] A. Walther, A.H.E. Müller, *Janus particles*, Soft Matter 4 (2008) 4, 663.
 - [323] A. Walther, A.H.E. Müller, *Janus particles: synthesis, self-assembly, physical properties, and applications*, Chemical reviews 113 (2013) 7, 5194–5261.
 - [324] E. Duguet, A. Desert, A. Perro, S. Ravaine, *Design and elaboration of colloidal molecules: an overview*, Chemical Society reviews 40 (2011) 2, 941–960.
 - [325] C. Kaewsaneha, P. Tangboriboonrat, D. Polpanich, M. Eissa, A. Elaissari, *Janus colloidal particles: preparation, properties, and biomedical applications*, ACS applied materials & interfaces 5 (2013) 6, 1857–1869.
 - [326] A. Synytska, R. Khanum, L. Ionov, C. Cherif, C. Bellmann, *Water-repellent textile via decorating fibers with amphiphilic Janus particles*, ACS applied materials & interfaces 3 (2011) 4, 1216–1220.
 - [327] M. Xuan, J. Shao, X. Lin, L. Dai, Q. He, *Self-propelled Janus mesoporous silica nanomotors with sub-100 nm diameters for drug encapsulation and delivery*, Chemphyschem a European journal of chemical physics and physical chemistry 15 (2014) 11, 2255–2260.
 - [328] J. Hu, S. Zhou, Y. Sun, X. Fang, L. Wu, *Fabrication, properties and applications of Janus particles*, Chemical Society reviews 41 (2012) 11, 4356–4378.
 - [329] S. Jiang, Q. Chen, M. Tripathy, E. Luijten, et al., *Janus Particle Synthesis and Assembly*, Adv. Mater. 22 (2010) 10, 1060–1071.
 - [330] M. Lattuada, T.A. Hatton, *Synthesis, properties and applications of Janus nanoparticles*, Nano Today 6 (2011) 3, 286–308.
 - [331] G. Loget, A. Kuhn, *Bulk synthesis of Janus objects and asymmetric patchy particles*, J. Mater. Chem. 22 (2012) 31, 15457.
 - [332] J. Du, R.K. O'Reilly, *Anisotropic particles with patchy, multicompartment and Janus architectures: preparation and application*, Chemical Society reviews 40 (2011) 5, 2402–2416.
 - [333] D. Rodríguez-Fernández, L.M. Liz-Marzán, *Metallic Janus and Patchy Particles*, Part. Part. Syst. Charact. 30 (2013) 1, 46–60.
 - [334] F. Wurm, A.F.M. Kilbinger, *Polymere Janus-Partikel*, Angew. Chem. 121 (2009) 45, 8564–8574.
 - [335] H. Wang, L. Chen, Y. Feng, H. Chen, *Exploiting core-shell synergy for nanosynthesis and mechanistic investigation*, Accounts of chemical research 46 (2013) 7, 1636–1646.
 - [336] C. Kaewsaneha, P. Tangboriboonrat, D. Polpanich, M. Eissa, A. Elaissari, *Preparation of Janus colloidal particles via Pickering emulsion: An overview*, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 439 (2013) 35–42.

-
- [337] V. Sfika, C. Tsitsilianis, A. Kiri, G. Gorodyska, M. Stamm, *pH Responsive Heteroarm Starlike Micelles from Double Hydrophilic ABC Terpolymer with Amphiphilic A and C Blocks*, *Macromolecules* 37 (**2004**) 25, 9551–9560.
 - [338] I.K. Voets, A. de Keizer, P. de Waard, P.M. Frederik, et al., *Double-Faced Micelles from Water-Soluble Polymers*, *Angew. Chem.* 118 (**2006**) 40, 6825–6828.
 - [339] S. Seiffert, M.B. Romanowsky, D.A. Weitz, *Janus microgels produced from functional precursor polymers*, *Langmuir the ACS journal of surfaces and colloids* 26 (**2010**) 18, 14842–14847.
 - [340] C.-H. Chen, R.K. Shah, A.R. Abate, D.A. Weitz, *Janus particles templated from double emulsion droplets generated using microfluidics*, *Langmuir the ACS journal of surfaces and colloids* 25 (**2009**) 8, 4320–4323.
 - [341] D. Dendukuri, T.A. Hatton, P.S. Doyle, *Synthesis and self-assembly of amphiphilic polymeric microparticles*, *Langmuir the ACS journal of surfaces and colloids* 23 (**2007**) 8, 4669–4674.
 - [342] T. Nisisako, T. Torii, *Formation of Biphasic Janus Droplets in a Microfabricated Channel for the Synthesis of Shape-Controlled Polymer Microparticles*, *Adv. Mater.* 19 (**2007**) 11, 1489–1493.
 - [343] G. Acharya, C.S. Shin, M. McDermott, H. Mishra, et al., *The hydrogel template method for fabrication of homogeneous nano/microparticles*, *Journal of controlled release official journal of the Controlled Release Society* 141 (**2010**) 3, 314–319.
 - [344] A. Greiner, J.H. Wendorff, *Electrospinning: A Fascinating Method for the Preparation of Ultrathin Fibers*, *Angew. Chem. Int. Ed.* 46 (**2007**) 30, 5670–5703.
 - [345] K.J. Lee, S. Hwang, J. Yoon, S. Bhaskar, et al., *Compartmentalized photoreactions within compositionally anisotropic Janus microstructures*, *Macromolecular rapid communications* 32 (**2011**) 5, 431–437.
 - [346] J.B. Lee, Y.-G. Ko, D. Cho, W.H. Park, et al., *Modification of PLGA Nanofibrous Mats by Electron Beam Irradiation for Soft Tissue Regeneration*, *Journal of Nanomaterials* 2015 (**2015**) 3, 1–10.
 - [347] J.S.C. Loo, C.P. Ooi, F.Y.C. Boey, *Degradation of poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) and poly(L-lactide) (PLLA) by electron beam radiation*, *Biomaterials* 26 (**2005**) 12, 1359–1367.
 - [348] J. Roger, J.N. Pons, R. Massart, A. Halbreich, J.C. Bacri, *Some biomedical applications of ferrofluids*, *Eur. Phys. J. AP* 5 (**1999**) 3, 321–325.
 - [349] C. Bergemann, D. Müller-Schulte, J. Oster, L. à Brassard, A. Lübke, *Magnetic ion-exchange nano- and microparticles for medical, biochemical and molecular biological applications*, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 194 (**1999**) 1-3, 45–52.
 - [350] S. Mornet, S. Vasseur, F. Grasset, E. Duguet, *Magnetic nanoparticle design for medical diagnosis and therapy*, *J. Mater. Chem.* 14 (**2004**) 14, 2161–2175.
 - [351] L.X. Tiefenauer, A. Tschirky, G. Kühne, R.Y. Andres, *In vivo evaluation of magnetite nanoparticles for use as a tumor contrast agent in MRI*, *Magnetic Resonance Imaging* 14 (**1996**) 4, 391–402.
 - [352] A. Jordan, R. Scholz, P. Wust, H. Fähling, R. Felix, *Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles*, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* (**1999**) 201, 413–419.
 - [353] P. Kronick, R.W. Gilpin, *Use of superparamagnetic particles for isolation of cells*, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 12 (**1986**) 1-2, 73–80.

-
- [354] G.K. Kouassi, J. Irudayaraj, *Magnetic and gold-coated magnetic nanoparticles as a DNA sensor*, Analytical chemistry 78 (2006) 10, 3234–3241.
 - [355] R. Weissleder, A. Moore, U. Mahmood, R. Bhorade, et al., *In vivo magnetic resonance imaging of transgene expression*, Nature medicine 6 (2000) 3, 351–355.
 - [356] S.M. O'Brien, R.P. Sloane, O.R. Thomas, P. Dunnill, *Characterisation of non-porous magnetic chelator supports and their use to recover polyhistidine-tailed T4 lysozyme from a crude E. coli extract*, Journal of Biotechnology 54 (1997) 1, 53–67.
 - [357] M. Chorny, B. Polyak, I.S. Alferiev, K. Walsh, et al., *Magnetically driven plasmid DNA delivery with biodegradable polymeric nanoparticles*, FASEB journal official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology 21 (2007) 10, 2510–2519.
 - [358] T. Bahar, S.S. Celebi, *Immobilization of glucoamylase on magnetic poly(styrene) particles*, J. Appl. Polym. Sci. 72 (1999) 1, 69–73.
 - [359] E.M. Shapiro, *Biodegradable, polymer encapsulated, metal oxide particles for MRI-based cell tracking*, Magnetic resonance in medicine 73 (2015) 1, 376–389.
 - [360] C. Alexiou, W. Arnold, R.J. Klein, F.G. Parak, et al., *Locoregional Cancer Treatment with Magnetic Drug Targeting*, Cancer Research 60 (2000) 23, 6641–6648.
 - [361] L.N. Okassa, H. Marchais, L. Douziech-Eyrolles, S. Cohen-Jonathan, et al., *Development and characterization of sub-micron poly(D,L-lactide-co-glycolide) particles loaded with magnetite/maghemite nanoparticles*, International journal of pharmaceutics 302 (2005) 1-2, 187–196.
 - [362] J. Arias, V. Gallardo, S. Gómez-Lopera, R. Plaza, A. Delgado, *Synthesis and characterization of poly(ethyl-2-cyanoacrylate) nanoparticles with a magnetic core*, Journal of Controlled Release 77 (2001) 3, 309–321.
 - [363] S.-J. Lee, J.-R. Jeong, S.-C. Shin, J.-C. Kim, et al., *Nanoparticles of magnetic ferric oxides encapsulated with poly(D,L lactide-co-glycolide) and their applications to magnetic resonance imaging contrast agent*, Journal of Magnetism and Magnetic Materials 272-276 (2004) 2432–2433.
 - [364] S.-J. Lee, J.-R. Jeong, S.-C. Shin, J.-C. Kim, et al., *Magnetic enhancement of iron oxide nanoparticles encapsulated with poly(d,l-lactide-co-glycolide)*, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 255 (2005) 1-3, 19–25.
 - [365] R.A. Wassel, B. Grady, R.D. Kopke, K.J. Dormer, *Dispersion of super paramagnetic iron oxide nanoparticles in poly(d,l-lactide-co-glycolide) microparticles*, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 292 (2007) 2-3, 125–130.
 - [366] J. Gang, S.-B. Park, W. Hyung, E.H. Choi, et al., *Magnetic poly ε-caprolactone nanoparticles containing Fe₃O₄ and gemcitabine enhance anti-tumor effect in pancreatic cancer xenograft mouse model*, Journal of drug targeting 15 (2007) 6, 445–453.
 - [367] L.N. Okassa, H. Marchais, L. Douziech-Eyrolles, K. Hervé, et al., *Optimization of iron oxide nanoparticles encapsulation within poly(d,l-lactide-co-glycolide) sub-micron particles*, European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics official journal of Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V 67 (2007) 1, 31–38.

-
- [368] M. Hamoudeh, H. Fessi, *Preparation, characterization and surface study of poly-epsilon caprolactone magnetic microparticles*, Journal of Colloid and Interface Science 300 (2006) 2, 584–590.
 - [369] J. Yang, S.-B. Park, H.-G. Yoon, Y.-M. Huh, S. Haam, *Preparation of poly epsilon-caprolactone nanoparticles containing magnetite for magnetic drug carrier*, International journal of pharmaceutics 324 (2006) 2, 185–190.
 - [370] F. Caruso, A.S. Susa, M. Giersig, H. Möhwald, *Magnetic Core-Shell Particles: Preparation of Magnetite Multilayers on Polymer Latex Microspheres*, Adv. Mater. 11 (1999) 11, 950–953.
 - [371] D. Hoffmann, K. Landfester, M. Antonietti, *Encapsulation of magnetite in polymer particles via the miniemulsion polymerization process*, Magneto hydrodynamics 37 (2001) 3, 217–221.
 - [372] V. Holzapfel, M. Lorenz, C.K. Weiss, H. Schrezenmeier, et al., *Synthesis and biomedical applications of functionalized fluorescent and magnetic dual reporter nanoparticles as obtained in the miniemulsion process*, J. Phys.: Condens. Matter 18 (2006) 38, S2581–S2594.
 - [373] A. Xia, J. Hu, C. Wang, D. Jiang, *Synthesis of magnetic microspheres with controllable structure via polymerization-triggered self-positioning of nanocrystals*, Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany) 3 (2007) 10, 1811–1817.
 - [374] J.M. Singer, *The use of polystyrene latexes in medicine*, NATO ASI Series 138, 1987, 371–394.
 - [375] J. Jose, K. Burgess, *Benzophenoxazine-based fluorescent dyes for labeling biomolecules*, Tetrahedron 62 (2006) 48, 11021–11037.
 - [376] G.B. Dutt, M.K. Singh, A.V. Sapre, *Rotational dynamics of neutral red: Do ionic and neutral solutes experience the same friction?*, The Journal of Chemical Physics 109 (1998) 14, 5994–6003.
 - [377] D. Reiser, A. Laubereau, *Effect of electronic excitation on ultrafast rotational motion of dye molecules*, Chemical Physics Letters 92 (1982) 3, 297–301.
 - [378] A. Kowski, P. Bojarski, B. Kukliński, *Estimation of ground- and excited-state dipole moments of Nile Red dye from solvatochromic effect on absorption and fluorescence spectra*, Chemical Physics Letters 463 (2008) 4–6, 410–412.
 - [379] N. Sarkar, K. Das, D.N. Nath, K. Bhattacharyya, *Twisted charge transfer processes of nile red in homogeneous solutions and in faujasite zeolite*, Langmuir 10 (1994) 1, 326–329.
 - [380] A.K. Dutta, K. Kamada, K. Ohta, *Spectroscopic studies of nile red in organic solvents and polymers*, Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 93 (1996) 1, 57–64.
 - [381] C.M. Golini, B.W. Williams, J.B. Foresman, *Further Solvatochromic, Thermochromic, and Theoretical Studies on Nile Red*, Journal of Fluorescence 8 (1998) 4, 395–404.
 - [382] P. Greenspan, S.D. Fowler, *Spectrofluorometric studies of the lipid probe, nile red*, Journal of lipid research 26 (1985) 7, 781–789.
 - [383] I.N. Kurniasih, H. Liang, P.C. Mohr, G. Khot, et al., *Nile red dye in aqueous surfactant and micellar solution*, Langmuir the ACS journal of surfaces and colloids 31 (2015) 9, 2639–2648.
 - [384] J.F. Deye, T.A. Berger, A.G. Anderson, *Nile Red as a solvatochromic dye for measuring solvent strength in normal liquids and mixtures of normal liquids with supercritical and near critical fluids*, Anal. Chem. 62 (1990) 6, 615–622.

- [385] C. Reichardt, *Solvatochromic Dyes as Solvent Polarity Indicators*, Chem. Rev. 94 (**1994**) 8, 2319–2358.
- [386] A. Datta, D. Mandal, S.K. Pal, K. Bhattacharyya, *Intramolecular Charge Transfer Processes in Confined Systems. Nile Red in Reverse Micelles*, J. Phys. Chem. B 101 (**1997**) 49, 10221–10225.
- [387] K.A. Fletcher, I.A. Storey, A.E. Hendricks, S. Pandey, S. Pandey, *Behavior of the solvatochromic probes Reichardt's dye, pyrene, dansylamide, Nile Red and 1-pyrenecarbaldehyde within the room-temperature ionic liquid bmimPF₆*, Green Chem. 3 (**2001**) 5, 210–215.
- [388] D.G. Yablon, A.M. Schilowitz, *Solvatochromism of Nile Red in nonpolar solvents*, Applied spectroscopy 58 (**2004**) 7, 843–847.
- [389] M.C.A. Stuart, J.C. van de Pas, J.B.F.N. Engberts, *The use of Nile Red to monitor the aggregation behavior in ternary surfactant-water-organic solvent systems*, J. Phys. Org. Chem. 18 (**2005**) 9, 929–934.
- [390] A. Okamoto, K. Tainaka, Y. Fujiwara, *Nile Red nucleoside: Design of a solvatofluorochromic nucleoside as an indicator of micropolarity around DNA*, The Journal of organic chemistry 71 (**2006**) 9, 3592–3598.
- [391] N.A. Murugan, Z. Rinkevicius, H. Ågren, *Modeling solvatochromism of Nile red in water*, Int. J. Quantum Chem. 111 (**2011**) 7-8, 1521–1530.
- [392] B. Trappmann, K. Ludwig, M.R. Radowski, A. Shukla, et al., *A new family of nonionic dendritic amphiphiles displaying unexpected packing parameters in micellar assemblies*, Journal of the American Chemical Society 132 (**2010**) 32, 11119–11124.
- [393] D.M. Watkins, Y. Sayed-Sweet, J.W. Klimash, N.J. Turro, D.A. Tomalia, *Dendrimers with Hydrophobic Cores and the Formation of Supramolecular Dendrimer–Surfactant Assemblies*, Langmuir 13 (**1997**) 12, 3136–3141.
- [394] E. Fleige, B. Ziem, M. Grabolle, R. Haag, U. Resch-Genger, *Aggregation Phenomena of Host and Guest upon the Loading of Dendritic Core-Multishell Nanoparticles with Solvatochromic Dyes*, Macromolecules 45 (**2012**) 23, 9452–9459.
- [395] I.N. Kurniasih, H. Liang, S. Kumar, A. Mohr, et al., *A bifunctional nanocarrier based on amphiphilic hyperbranched polyglycerol derivatives*, J. Mater. Chem. B 1 (**2013**) 29, 3569–3577.
- [396] S. Mukherjee, H. Raghuraman, A. Chattopadhyay, *Membrane localization and dynamics of Nile Red: effect of cholesterol*, Biochimica et biophysica acta 1768 (**2007**) 1, 59–66.
- [397] J. Sloniec, M. Schnurr, C. Witte, U. Resch-Genger, et al., *Biomembrane interactions of functionalized cryptophane-A: combined fluorescence and ¹²⁹Xe NMR studies of a bimodal contrast agent*, Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany) 19 (**2013**) 9, 3110–3118.
- [398] D.L. Sackett, J. Wolff, *Nile red as a polarity-sensitive fluorescent probe of hydrophobic protein surfaces*, Analytical biochemistry 167 (**1987**) 2, 228–234.
- [399] A. Hawe, M. Sutter, W. Jiskoot, *Extrinsic Fluorescent Dyes as Tools for Protein Characterization*, Pharmaceutical research 25 (**2008**) 7, 1487–1499.
- [400] A.J. Carmichael, K.R. Seddon, *Polarity study of some 1-alkyl-3-methylimidazolium ambient-temperature ionic liquids with the solvatochromic dye, Nile Red*, J. Phys. Org. Chem. 13 (**2000**) 10, 591–595.

- [401] E.R. Gillies, J.M.J. Fréchet, *A new approach towards acid sensitive copolymer micelles for drug delivery*, Chem. Commun. 47 (**2003**) 14, 1640–1641.
- [402] E.R. Gillies, T.B. Jonsson, J.M.J. Fréchet, *Stimuli-responsive supramolecular assemblies of linear-dendritic copolymers*, Journal of the American Chemical Society 126 (**2004**) 38, 11936–11943.
- [403] C.-J. Jang, J.-H. Ryu, J.-D. Lee, D. Sohn, M. Lee, *Synthesis and Supramolecular Nanostructure of Amphiphilic Rigid Aromatic-Flexible Dendritic Block Molecules*, Chem. Mater. 16 (**2004**) 22, 4226–4231.
- [404] J. Jiang, X. Tong, Y. Zhao, *A new design for light-breakable polymer micelles*, Journal of the American Chemical Society 127 (**2005**) 23, 8290–8291.
- [405] J. Bigot, B. Charleux, G. Cooke, F. Delattre, et al., *Tetrathiafulvalene end-functionalized poly(N-isopropylacrylamide): a new class of amphiphilic polymer for the creation of multistimuli responsive micelles*, Journal of the American Chemical Society 132 (**2010**) 31, 10796–10801.
- [406] A. Zhang, Z. Zhang, F. Shi, J. Ding, et al., *Disulfide crosslinked PEGylated starch micelles as efficient intracellular drug delivery platforms*, Soft Matter 9 (**2013**) 7, 2224.
- [407] R. Varghese, H.-A. Wagenknecht, *Non-covalent versus covalent control of self-assembly and chirality of Nile red-modified nucleoside and DNA*, Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany) 16 (**2010**) 30, 9040–9046.
- [408] *J-aggregate*.
- [409] S. Bhatia, A. Mohr, D. Mathur, V.S. Parmar, et al., *Biocatalytic route to sugar-PEG-based polymers for drug delivery applications*, Biomacromolecules 12 (**2011**) 10, 3487–3498.
- [410] D.f.E. Wikipedia, *Wasserstoff*, **2018**, <https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Wasserstoff&oldid=174807579>, accessed 22 March 2018.
- [411] D.f.E. Wikipedia, *Kohlenstoff*, **2018**, <https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Kohlenstoff&oldid=174163526>, accessed 22.03.2018; 12:28.
- [412] D.f.E. Wikipedia, *Chlor*, **2018**, <https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Chlor&oldid=174568687>, accessed 22 March 2018.
- [413] t.f.e. Wikipedia, *Chloroform (data page)*, **2017**, [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Chloroform_\(data_page\)&oldid=794043228](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Chloroform_(data_page)&oldid=794043228), accessed 22 March 2018.
- [414] T. Ziegler, *Bindungslängen in organischen Verbindungen*, <http://www.oc2.chemie.uni-tuebingen.de/lectures/bachelor/Folien/1-6%20Bindungslaengen.pdf>, accessed 22 March 2018.
- [415] F. Neese, *The ORCA program system*, WIREs Comput Mol Sci 2 (**2012**) 1, 73–78.
- [416] A.D. Becke, *Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange*, The Journal of Chemical Physics 98 (**1993**) 7, 5648–5652.
- [417] C. Lee, W. Yang, R.G. Parr, *Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density*, Phys. Rev. B 37 (**1988**) 2, 785–789.

- [418] B. Miehlich, A. Savin, H. Stoll, H. Preuss, *Results obtained with the correlation energy density functionals of Becke and Lee, Yang and Parr*, Chemical Physics Letters 157 (**1989**) 3, 200–206.
- [419] F. Neese, F. Wennmohs, A. Hansen, U. Becker, *Efficient, approximate and parallel Hartree–Fock and hybrid DFT calculations. A ‘chain-of-spheres’ algorithm for the Hartree–Fock exchange*, Chemical Physics 356 (**2009**) 1–3, 98–109.
- [420] R. Izsák, F. Neese, *An overlap fitted chain of spheres exchange method*, The Journal of Chemical Physics 135 (**2011**) 14, 144105.
- [421] D.A. Pantazis, X.-Y. Chen, C.R. Landis, F. Neese, *All-Electron Scalar Relativistic Basis Sets for Third-Row Transition Metal Atoms*, Journal of chemical theory and computation 4 (**2008**) 6, 908–919.
- [422] S. Sinnecker, A. Rajendran, A. Klamt, M. Diedenhofen, F. Neese, *Calculation of solvent shifts on electronic g-tensors with the conductor-like screening model (COSMO) and its self-consistent generalization to real solvents (direct COSMO-RS)*, The journal of physical chemistry. A 110 (**2006**) 6, 2235–2245.
- [423] F. Weigend, *Accurate Coulomb-fitting basis sets for H to Rn*, Physical chemistry chemical physics PCCP 8 (**2006**) 9, 1057–1065.
- [424] F. Weigend, R. Ahlrichs, *Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy*, Physical chemistry chemical physics PCCP 7 (**2005**) 18, 3297–3305.
- [425] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. Krieg, *A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H–Pu*, The Journal of Chemical Physics 132 (**2010**) 15, 154104.
- [426] S. Grimme, S. Ehrlich, L. Goerigk, *Effect of the damping function in dispersion corrected density functional theory*, Journal of computational chemistry 32 (**2011**) 7, 1456–1465.
- [427] D.f.E. Wikipedia, *Viskosität*, **2018UTC**, <https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Viskosit%C3%A4t&oldid=183971119>, accessed 2 January 2019UTC.
- [428] H.N. Onyema, *Aufnahme von Nanopartikel in einem statischen und dynamischen in vitro-Modell der Blut-Hirn-Schranke*. Masterthesis, Mainz, **2016**.
- [429] R.A. Hawkins, R.L. O’Kane, I.A. Simpson, J.R. Vĩña, *Structure of the Blood–Brain Barrier and its Role in the Transport of Amino Acids*, The Journal of Nutrition 136 (**2006**) 1, 218S–226.
- [430] C. Roney, P. Kulkarni, V. Arora, P. Antich, et al., *Targeted nanoparticles for drug delivery through the blood-brain barrier for Alzheimer’s disease*, Journal of controlled release official journal of the Controlled Release Society 108 (**2005**) 2–3, 193–214.
- [431] N.J. Abbott, L. Rönnbäck, E. Hansson, *Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier*, Nature reviews. Neuroscience 7 (**2006**) 1, 41–53.
- [432] N.J. Abbott, A.A.K. Patabendige, D.E.M. Dolman, S.R. Yusof, D.J. Begley, *Structure and function of the blood-brain barrier*, Neurobiology of disease 37 (**2010**) 1, 13–25.
- [433] B.T. Hawkins, T.P. Davis, *The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease*, Pharmacological reviews 57 (**2005**) 2, 173–185.

-
- [434] F.L. Cardoso, D. Brites, M.A. Brito, *Looking at the blood-brain barrier: molecular anatomy and possible investigation approaches*, Brain research reviews 64 (2010) 2, 328–363.
 - [435] A.M.S. Hartz, B. Bauer, *ABC Transporters in the CNS – An Inventory*, CPB 12 (2011) 4, 656–673.
 - [436] M. Ueno, *Mechanisms of the penetration of blood-borne substances into the brain*, Current neuropharmacology 7 (2009) 2, 142–149.
 - [437] A.D. Wong, M. Ye, A.F. Levy, J.D. Rothstein, et al., *The blood-brain barrier: An engineering perspective*, Frontiers in neuroengineering 6 (2013) 7, 1–22.
 - [438] R.G. Shulman, D.L. Rothman, K.L. Behar, F. Hyder, *Energetic basis of brain activity: Implications for neuroimaging*, Trends in neurosciences 27 (2004) 8, 489–495.
 - [439] M.E. Raichle, M.A. Mintun, *Brain work and brain imaging*, Annual review of neuroscience 29 (2006) 449–476.
 - [440] S. Nag, *Morphology and properties of brain endothelial cells*, Methods in molecular biology (Clifton, N.J.) 686 (2011) 3–47.
 - [441] Q.R. Smith, S.I. Rapoport, *Cerebrovascular permeability coefficients to sodium, potassium, and chloride*, Journal of neurochemistry 46 (1986) 6, 1732–1742.
 - [442] C. Crone, S.P. Olesen, *Electrical resistance of brain microvascular endothelium*, Brain Research 241 (1982) 1, 49–55.
 - [443] C.E. Johanson, *Permeability and vascularity of the developing brain: Cerebellum vs cerebral cortex*, Brain Research 190 (1980) 1, 3–16.
 - [444] E.A. Winkler, R.D. Bell, B.V. Zlokovic, *Central nervous system pericytes in health and disease*, Nature neuroscience 14 (2011) 11, 1398–1405.
 - [445] D.E. Sims, *The pericyte—A review*, Tissue and Cell 18 (1986) 2, 153–174.
 - [446] M. Krueger, I. Bechmann, *CNS pericytes: Concepts, misconceptions, and a way out*, Glia 58 (2010) 1, 1–10.
 - [447] T. Dalkara, Y. Gursoy-Ozdemir, M. Yemisci, *Brain microvascular pericytes in health and disease*, Acta neuropathologica 122 (2011) 1, 1–9.
 - [448] N.B. Hamilton, D. Attwell, C.N. Hall, *Pericyte-mediated regulation of capillary diameter: A component of neurovascular coupling in health and disease*, Frontiers in neuroenergetics 2 (2010).
 - [449] J.M. Dolan, J. Kolega, H. Meng, *High wall shear stress and spatial gradients in vascular pathology: A review*, Annals of biomedical engineering 41 (2013) 7, 1411–1427.
 - [450] T.G. Papaioannou, C. Stefanadis, *Vascular wall shear stress: basic principles and methods*, Hellenic journal of cardiology HJC = Hellenike kardiologike epitheorese 46 (2005) 1, 9–15.
 - [451] L. Cucullo, M. Hossain, V. Puvanna, N. Marchi, D. Janigro, *The role of shear stress in Blood-Brain Barrier endothelial physiology*, BMC neuroscience 12 (2011) 40–54.
 - [452] R.M. Nerem, M.J. Levesque, J.F. Cornhill, *Vascular endothelial morphology as an indicator of the pattern of blood flow*, Journal of biomechanical engineering 103 (1981) 3, 172–176.

-
- [453] M.J. Levesque, R.M. Nerem, *The elongation and orientation of cultured endothelial cells in response to shear stress*, Journal of biomechanical engineering 107 (**1985**) 4, 341–347.
 - [454] A.M. Malek, S. Izumo, *Mechanism of endothelial cell shape change and cytoskeletal remodeling in response to fluid shear stress*, Journal of cell science 109 (Pt 4) (**1996**) 713–726.
 - [455] A. Armulik, G. Genove, M. Mae, M.H. Nisancioglu, et al., *Pericytes regulate the blood-brain barrier*, Nature 468 (**2010**) 7323, 557–561.
 - [456] R.D. Bell, E.A. Winkler, A.P. Sagare, I. Singh, et al., *Pericytes control key neurovascular functions and neuronal phenotype in the adult brain and during brain aging*, Neuron 68 (**2010**) 3, 409–427.
 - [457] C. Iadecola, *Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease*, Nature reviews. Neuroscience 5 (**2004**) 5, 347–360.
 - [458] D.f.E. Wikipedia, *Gliazelle*, **2018UTC**, <https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Gliazelle&oldid=173363612>, accessed 29 January 2018UTC.
 - [459] N.A. Jessen, A.S.F. Munk, I. Lundgaard, M. Nedergaard, *The Glymphatic System: A Beginner's Guide*, Neurochemical research 40 (**2015**) 12, 2583–2599.
 - [460] D. Raper, A. Louveau, J. Kipnis, *How Do Meningeal Lymphatic Vessels Drain the CNS?*, Trends in neurosciences 39 (**2016**) 9, 581–586.
 - [461] D.f.E. Wikipedia, *Astrozyt*, **2017UTC**, <https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Astrozyt&oldid=164085724>, accessed 29 January 2018UTC.
 - [462] A. Avdeef, *Physicochemical profiling (solubility, permeability and charge state)*, Current topics in medicinal chemistry 1 (**2001**) 4, 277–351.
 - [463] C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney, *Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings*, Advanced drug delivery reviews 46 (**2001**) 1-3, 3–26.
 - [464] Y. Chen, L. Liu, *Modern methods for delivery of drugs across the blood-brain barrier*, Advanced drug delivery reviews 64 (**2012**) 7, 640–665.
 - [465] M.D. Habgood, D.J. Begley, N.J. Abbott, *Determinants of passive drug entry into the central nervous system*, Cellular and molecular neurobiology 20 (**2000**) 2, 231–253.
 - [466] W.H. Oldendorf, W.J. Brown, *Greater Number of Capillary Endothelial Cell Mitochondria in Brain Than in Muscle*, Experimental Biology and Medicine 149 (**1975**) 3, 736–738.
 - [467] M.A. Deli, *Potential use of tight junction modulators to reversibly open membranous barriers and improve drug delivery*, Biochimica et biophysica acta 1788 (**2009**) 4, 892–910.
 - [468] K. Hynynen, *Ultrasound for drug and gene delivery to the brain*, Advanced drug delivery reviews 60 (**2008**) 10, 1209–1217.
 - [469] R. Stam, *Electromagnetic fields and the blood-brain barrier*, Brain research reviews 65 (**2010**) 1, 80–97.

-
- [470] E.A. Neuwelt, E.P. Frenkel, J. Diehl, L.H. Vu, et al., *Reversible osmotic blood-brain barrier disruption in humans: implications for the chemotherapy of malignant brain tumors*, *Neurosurgery* 7 (1980) 1, 44–52.
 - [471] N.D. Doolittle, L.E. Abrey, N. Ferrari, W.A. Hall, et al., *Targeted delivery in primary and metastatic brain tumors: summary report of the seventh annual meeting of the Blood-Brain Barrier Disruption Consortium*, *Clinical cancer research an official journal of the American Association for Cancer Research* 8 (2002) 6, 1702–1709.
 - [472] E. Sanovich, R.T. Bartus, P.M. Friden, R.L. Dean, et al., *Pathway across blood-brain barrier opened by the bradykinin agonist, RMP-7*, *Brain Research* 705 (1995) 1-2, 125–135.
 - [473] R.T. Bartus, P. Elliott, N. Hayward, R. Dean, et al., *Permeability of the blood brain barrier by the bradykinin agonist, RMP-7: evidence for a sensitive, auto-regulated, receptor-mediated system*, *Immunopharmacology* 33 (1996) 1-3, 270–278.
 - [474] C.V. Borlongan, D.F. Emerich, *Facilitation of drug entry into the CNS via transient permeation of blood brain barrier: laboratory and preliminary clinical evidence from bradykinin receptor agonist, Cereport*, *Brain research bulletin* 60 (2003) 3, 297–306.
 - [475] V. Monnaert, S. Tilloy, H. Bricout, L. Fenart, et al., *Behavior of alpha-, beta-, and gamma-cyclodextrins and their derivatives on an in vitro model of blood-brain barrier*, *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 310 (2004) 2, 745–751.
 - [476] R. Jevprasesphant, J. Penny, D. Attwood, A. D'Emanuele, *Transport of dendrimer nanocarriers through epithelial cells via the transcellular route*, *Journal of controlled release official journal of the Controlled Release Society* 97 (2004) 2, 259–267.
 - [477] E. Allard, C. Passirani, J.-P. Benoit, *Convection-enhanced delivery of nanocarriers for the treatment of brain tumors*, *Biomaterials* 30 (2009) 12, 2302–2318.
 - [478] D.f.E. Wikipedia, *Glioblastom*, **2017UTC**, <https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Glioblastom&oldid=169617828>, accessed 30 January 2018UTC.
 - [479] T. Fukushima, T. Tezuka, T. Shimomura, S. Nakano, H. Kataoka, *Silencing of insulin-like growth factor-binding protein-2 in human glioblastoma cells reduces both invasiveness and expression of progression-associated gene CD24*, *The Journal of biological chemistry* 282 (2007) 25, 18634–18644.
 - [480] B.Y.S. Ong, S.H. Ranganath, L.Y. Lee, F. Lu, et al., *Paclitaxel delivery from PLGA foams for controlled release in post-surgical chemotherapy against glioblastoma multiforme*, *Biomaterials* 30 (2009) 18, 3189–3196.
 - [481] D.R. Johnson, B.P. O'Neill, *Glioblastoma survival in the United States before and during the temozolomide era*, *Journal of neuro-oncology* 107 (2012) 2, 359–364.
 - [482] N.J. Roger, D.J. Lewis, *Biological applications of nanomaterials.*, in: P. O'Brien, P.J. Thomas (Eds.), *Biological applications of nanomaterials.*, Nanoscience, Cambridge, **2016**.
 - [483] J. Kreuter, D. Shamenkov, V. Petrov, P. Ramge, et al., *Apolipoprotein-mediated transport of nanoparticle-bound drugs across the blood-brain barrier*, *Journal of drug targeting* 10 (2002) 4, 317–325.

-
- [484] J. Nicolas, S. Mura, D. Brambilla, N. Mackiewicz, P. Couvreur, *Design, functionalization strategies and biomedical applications of targeted biodegradable/biocompatible polymer-based nanocarriers for drug delivery*, Chem. Soc. Rev. 42 (2013) 3, 1147–1235.
- [485] Y. Zhang, H.F. Chan, K.W. Leong, *Advanced materials and processing for drug delivery: the past and the future*, Advanced drug delivery reviews 65 (2013) 1, 104–120.
- [486] S. Miltenyi, W. Muller, W. Weichel, A. Radbruch, *High gradient magnetic cell separation with MACS*, Cytometry 11 (1990) 2, 231–238.
- [487] L. Wang, D.K. Nagesha, S. Selvarasah, M.R. Dokmeci, R.L. Carrier, *Toxicity of CdSe Nanoparticles in Caco-2 Cell Cultures*, Journal of nanobiotechnology 6 (2008) 11–25.
- [488] A. Godwin, K. Bolina, M. Clochard, E. Dinand, et al., *New strategies for polymer development in pharmaceutical science--a short review*, The Journal of pharmacy and pharmacology 53 (2001) 9, 1175–1184.
- [489] J. Kopecek, P. Kopeckova, T. Minko, Z. Lu, *HPMA copolymer-anticancer drug conjugates: design, activity, and mechanism of action*, European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V 50 (2000) 1, 61–81.
- [490] R. Haag, F. Kratz, *Polymer therapeutics: concepts and applications*, Angewandte Chemie (International ed. in English) 45 (2006) 8, 1198–1215.
- [491] K. Riehemann, S.W. Schneider, T.A. Luger, B. Godin, et al., *Nanomedizin - Herausforderung und Perspektiven*, Angew. Chem. 121 (2009) 5, 886–913.
- [492] D. Peer, J.M. Karp, S. Hong, O.C. Farokhzad, et al., *Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy*, Nature nanotechnology 2 (2007) 12, 751–760.
- [493] K. Nagpal, S.K. Singh, D.N. Mishra, *Chitosan nanoparticles: a promising system in novel drug delivery*, Chemical & pharmaceutical bulletin 58 (2010) 11, 1423–1430.
- [494] S. Wohlfart, S. Gelperina, J. Kreuter, *Transport of drugs across the blood-brain barrier by nanoparticles*, Journal of controlled release official journal of the Controlled Release Society 161 (2012) 2, 264–273.
- [495] D. Scherer, J.R. Robinson, J. Kreuter, *Influence of enzymes on the stability of polybutylcyanoacrylate nanoparticles*, International journal of pharmaceutics 101 (1994) 1-2, 165–168.
- [496] E. Sykova, P. Jendelova, *Magnetic resonance tracking of implanted adult and embryonic stem cells in injured brain and spinal cord*, Annals of the New York Academy of Sciences 1049 (2005) 146–160.
- [497] D.L. Huber, *Synthesis, properties, and applications of iron nanoparticles*, Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany) 1 (2005) 5, 482–501.
- [498] S. Tenzer, D. Docter, S. Rosfa, A. Wlodarski, et al., *Nanoparticle size is a critical physicochemical determinant of the human blood plasma corona: a comprehensive quantitative proteomic analysis*, ACS nano 5 (2011) 9, 7155–7167.

-
- [499] M.P. Monopoli, D. Walczyk, A. Campbell, G. Elia, et al., *Physical-chemical aspects of protein corona: relevance to in vitro and in vivo biological impacts of nanoparticles*, Journal of the American Chemical Society 133 (2011) 8, 2525–2534.
 - [500] S. Tenzer, D. Docter, J. Kuharev, A. Musyanovych, et al., *Rapid formation of plasma protein corona critically affects nanoparticle pathophysiology*, Nature nanotechnology 8 (2013) 10, 772–781.
 - [501] S. Schöttler, G. Becker, S. Winzen, T. Steinbach, et al., *Protein adsorption is required for stealth effect of poly(ethylene glycol)- and poly(phosphoester)-coated nanocarriers*, Nature nanotechnology 11 (2016) 4, 372–377.
 - [502] T. Cedervall, I. Lynch, S. Lindman, T. Berggard, et al., *Understanding the nanoparticle-protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104 (2007) 7, 2050–2055.
 - [503] I. Lynch, T. Cedervall, M. Lundqvist, C. Cabaleiro-Lago, et al., *The nanoparticle-protein complex as a biological entity; a complex fluids and surface science challenge for the 21st century*, Advances in colloid and interface science 134-135 (2007) 167–174.
 - [504] S.E. McNeil, *Nanoparticle therapeutics: a personal perspective*, Wiley interdisciplinary reviews. Nanomedicine and nanobiotechnology 1 (2009) 3, 264–271.
 - [505] R. Haag, F. Kratz, *Polymere Therapeutika: Konzepte und Anwendungen*, Angew. Chem. 118 (2006) 8, 1218–1237.
 - [506] B. Kateb, K. Chiu, K.L. Black, V. Yamamoto, et al., *Nanoplatforms for constructing new approaches to cancer treatment, imaging, and drug delivery: what should be the policy?*, Neurolmage 54 Suppl 1 (2011) S106-24.
 - [507] G. Berry, M. Billingham, E. Alderman, P. Richardson, et al., *The use of cardiac biopsy to demonstrate reduced cardiotoxicity in AIDS/Kaposi's sarcoma patients treated with pegylated liposomal doxorubicin*, Annals of Oncology 9 (1998) 7, 711–716.
 - [508] H. Maeda, J. Wu, T. Sawa, Y. Matsumura, K. Hori, *Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review*, Journal of controlled release official journal of the Controlled Release Society 65 (2000) 1-2, 271–284.
 - [509] X. Gao, Y. Cui, R.M. Levenson, L.W.K. Chung, S. Nie, *In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots*, Nature biotechnology 22 (2004) 8, 969–976.
 - [510] K. Stockhofe, J.M. Postema, H. Schieferstein, T.L. Ross, *Radiolabeling of Nanoparticles and Polymers for PET Imaging*, Pharmaceuticals (Basel, Switzerland) 7 (2014) 4, 392–418.
 - [511] N.J. Philpott, A.J. Turner, J. Scopes, M. Westby, et al., *The use of 7-amino actinomycin D in identifying apoptosis: simplicity of use and broad spectrum of application compared with other techniques*, Blood 87 (1996) 6, 2244–2251.
 - [512] G. Valet, *Past and present concepts in flow cytometry: a European perspective*, Journal of BIOLOGICAL REGULATORS & Homeostatic Agents 17 (2003) 3, 213–222.
 - [513] W.M. Dittrich, W.H. Göhde, *Flow-through chamber for photometers to measure and count particles in a dispersion medium*, 1971.

-
- [514] M. Roderfeld, S. Matern, E. Roeb, *Confocal laser scanning microscopy: a deep look into the cell*, Deutsche medizinische Wochenschrift (1946) 128 (2003) 48, 2539–2542.
 - [515] G. Oberdörster, *Safety assessment for nanotechnology and nanomedicine: Concepts of nanotoxicology*, Journal of internal medicine 267 (2010) 1, 89–105.
 - [516] G. Oberdörster, *Nanotoxicology: In vitro-in vivo dosimetry*, Environmental health perspectives 120 (2012) 1, A13; author reply A13.
 - [517] J.T. Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, 3rd ed., Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997.
 - [518] Y. Zhang, H.F. Chan, K.W. Leong, *Advanced materials and processing for drug delivery: The past and the future*, Advanced drug delivery reviews 65 (2013) 1, 104–120.
 - [519] J. Nicolas, S. Mura, D. Brambilla, N. MacKiewicz, P. Couvreur, *Design, functionalization strategies and biomedical applications of targeted biodegradable/biocompatible polymer-based nanocarriers for drug delivery*, Chemical Society reviews 42 (2013) 3, 1147–1235.
 - [520] M. Calero, M. Chiappi, A. Lazaro-Carrillo, M.J. Rodriguez, et al., *Characterization of interaction of magnetic nanoparticles with breast cancer cells*, Journal of nanobiotechnology 13 (2015) 16.
 - [521] S. Mukherjee, R.N. Ghosh, F.R. Maxfield, *Endocytosis*, Physiological Reviews 77 (1997) 3, 759–803.
 - [522] M.R. Lorenz, V. Holzapfel, A. Musyanovych, K. Nothelfer, et al., *Uptake of functionalized, fluorescent-labeled polymeric particles in different cell lines and stem cells*, Biomaterials 27 (2006) 14, 2820–2828.
 - [523] O. Zupke, *Nanoparticles for efficient uptake by human dendritic cells and T lymphocytes to be used in adoptive immunotherapy. Dissertation, Mainz, 2012.*
 - [524] O. Zupke, E. Distler, A. Jurchott, U. Paiphansiri, et al., *Nanoparticles and antigen-specific T-cell therapeutics: a comprehensive study on uptake and release*, Nanomedicine (London, England) 10 (2015) 7, 1063–1076.
 - [525] B.W. Neun, S.T. Stern, *Monitoring lysosomal activity in nanoparticle-treated cells*, Methods in molecular biology (Clifton, N.J.) 697 (2011) 207–212.
 - [526] E. Fröhlich, C. Meindl, E. Roblegg, B. Ebner, et al., *Action of polystyrene nanoparticles of different sizes on lysosomal function and integrity*, Particle and fibre toxicology 9 (2012) 26.
 - [527] H. Xin, X. Sha, X. Jiang, W. Zhang, et al., *Anti-glioblastoma efficacy and safety of paclitaxel-loading Angiopep-conjugated dual targeting PEG-PCL nanoparticles*, Biomaterials 33 (2012) 32, 8167–8176.
 - [528] A. Zensi, D. Begley, C. Pontikis, C. Legros, et al., *Human serum albumin nanoparticles modified with apolipoprotein A-I cross the blood-brain barrier and enter the rodent brain*, Journal of drug targeting 18 (2010) 10, 842–848.

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die auf vielfältige Art und Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen und mich unterstützt haben!

LEBENS LAUF

