# Diffusionsexperimente an Nanokapseldispersionen:

Größenverteilung, Wirkstofffreisetzung und andere dynamische Phänomene

Von der Fakultät 4

Naturwissenschaften
der Gerhard-Mercator-Universität Duisburg

zur

Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.) genehmigte Dissertation

von

## **Michael Wohlgemuth**

aus

Oberhausen

Tag der mündlichen Prüfung: 06.02.2002

Erster Referent: Herr Prof. Dr. C. Mayer

Zweiter Referent: Herr Prof. Dr. W. S. Veeman

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt **Herrn Prof. Dr. Christian Mayer** für die Überlassung des interessanten Themas sowie seiner immerwährenden Unterstützung und Diskussionsbereitschaft während der Erstellung dieser Arbeit.

Bei **Herrn Prof. Dr. Ir. Wiebren S. Veeman** bedanke ich mich für seine Ratschläge bezüglich der NMR-Thematik und für die Übernahme des Korreferats.

Für die Hilfe im Umgang mit den NMR-Spektrometern und die Unterstützung bei technischen Fragestellungen möchte ich mich bei **Herrn M. Zähres** und **Herrn U. Bachorski** bedanken.

Herrn Dr. D. Hoffmann (Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung, Golm) danke ich für die DLS-Messungen. Bei Herrn Dr. W. Mächtle und seinen Mitarbeitern (Research Laboratory, BASF AG, Ludwigshafen) möchte ich mich für die Durchführung der Untersuchungen an der AUZ bedanken.

Mein ganz besonderer Dank gilt **Dr. R. H. G. Müller** (Forschungsinstitut für Bildverarbeitung, Umwelttechnik und Strömungsmechanik (FIBUS), Düsseldorf) für die Unterstützung bei der Programmierung der DNM-Methode.

Ferner möchte ich mich bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Fachgebietes Physikalische Chemie für die freundschaftliche und offene Atmosphäre bedanken. Voran schulde ich **Christiane Finder** für die gute Teamarbeit und unsere zahlreichen Englischstunden und **Martin Horstmann** für die kurzweilige Fahrgemeinschaft und die vielen Fachsimpeleien großen Dank.

Für die finanzielle Unterstützung während der Erstellung dieser Arbeit danke ich der Graduiertenförderung des Bundeslandes Nordrhein-Westfalen.

Schließlich möchte ich allen anderen, die mich bei der Erstellung dieser Dissertation auf unterschiedlichste Weise unterstützt haben und die hier ungenannt bleiben, für die erwiesene Hilfe danken.

"Zwei Dinge sind zu unserer Arbeit nötig: Unermüdliche Ausdauer und die Bereitschaft, etwas, in das man viel Zeit und Arbeit gesteckt hat, wieder wegzuwerfen." Albert Einstein

# Inhaltsverzeichnis

ı		neitung				
2	Nan	okapsel				
	2.1	Einführung				
	2.2	Aufba	u und Ch	arakterisierung von Nanokapseln	7	
		2.2.1	Synthes	e und Bildungsmechanismus	11	
			2.2.1.1	Einfluss von Art und Menge des Monomeren		
				auf die Kapselgröße	16	
			2.2.1.2	Einfluss der Temperatur und des pH-Werts		
				auf die Kapselgröße	17	
			2.2.1.3	Einfluss des Öl-Ethanol-Verhältnisses auf die		
				Kapselgröße	18	
			2.2.1.4	Einfluss von Art und Menge des Tensids auf die		
				Kapselgröße	19	
	2.3	Stabil	ität von m	nesoskopischen Systemen und Wirkstofffreisetzung	20	
3	Gru	ndlage	n der Dif	fusion	29	
	3.1	Einlei	tung		29	
	3.2	Freie Selbstdiffusion				
		3.2.1	Die math	nematische und statistische Betrachtung	31	

		3.2.2	Der physikalische Hintergrund			
	3.3	Gehin	derte Diffusion			
4	Ang	ewand	te NMR-Methoden			
	4.1	Grund	llagen			
		4.1.1	Die Zeeman-Wechselwirkung			
		4.1.2	Die Kernresonanz-Wechselwirkung und die Beobachtung der			
			Lamorfrequenzen			
		4.1.3	Die Relaxation			
		4.1.4	Die transversale Relaxation			
		4.1.5	Das Frequenzspektrum			
	4.2	Pulse	d Field Gradient NMR			
		4.2.1	Das Pulsed Field Gradient Stimulated Echo Experiment (PFG-			
			STE)			
		4.2.2	Freie Diffusion in der PFG-Technik			
		4.2.3	Gehinderte Diffusion in der PFG-Technik			
5	Dyn	namic Nanosizing Microscopy				
	5.1	Einleitung				
	5.2	Grundlagen der Durchlicht-Dunkelfeldmikroskopie zur Beobachtung				
		der Brownschen Bewegung				
		5.2.1	Die Bildentstehung nach G. B. Airy			
		5.2.2	Das Auflösungsvermögen im Hell- und Dunkelfeld			
	5.3		Digitale Bildverarbeitung			
		5.3.1	Die CCD-Kamera: Bildgewinnung			
		5.3.2	Die Framegrabberkarte: Bildrestauration und Mustererkennung			
		5.3.3	Bewegungsanalyse - Motion Tracking			
6	Erge	bniss	e und Diskussion			
	6.1	Einleitung				
	6.2	2 Voruntersuchungen zur PFG-NMR und DNM an Nanokapseln				
		6.2.1	Zuordnung der <sup>1</sup> H-NMR-Resonanzlinien			
		6.2.2	Potential der <i>Dynamic Nanosizing Microscopy (DNM)</i>			
	6.3	Steue	rung von Größenverteilungen und Wandstärken von			
		Nanol	kapseln durch Synthesevariationen			
		6.3.1	Der Einfluss von Scherkräften			
		6.3.2	Einfluss der Ölkonzentration			

		6.3.3 Wandstärke in Abhängigkeit vom pH-Wert der organischen			
		Phase	107		
	Der Reifungsprozess bei Nanokapseln im Vergleich zu				
		Emulsionströpfchen			
	6.5	Die wässrige Umgebung	112		
	6.6	Die Dynamik der Tensidmoleküle	113		
	6.7	Die gehinderte Diffusion des eingekapselten Öls	122		
	6.8	Die Verteilung des Ethanols	125		
	6.9	Benzol als Sonde zur Messung des Kapselwandwiderstands	129		
7	Exp	erimenteller Teil	145		
	7.1	Präparative Arbeiten	145		
		7.1.1 Nanokapselsynthesen	145		
		7.1.2 Emulsionen	147		
		7.1.3 Lösungen	147		
		7.1.4 Beladung von Nanokapseln mit Ersatzwirkstoffen	148		
		7.1.5 Verwendete Chemikalien und Apparaturen	148		
	7.2	DNM	149		
		7.2.1 Zusammenstellung und Aufbau	149		
		7.2.1.1 Technische Ausstattung	149		
		7.2.1.2 Steuerungsprogramme	150		
		7.2.1.3 Probenvorbereitung	156		
		7.2.2 Kalibration und das Verfahren der Messung	158		
		7.2.3 Messungen an Dispersionen	160		
	7.3	PFG-NMR	163		
		7.3.1 Voruntersuchungen	163		
		7.3.2 Gradientenkalibration	164		
		7.3.3 Pulsprogramm	164		
		7.3.4 Durchgeführte Messungen	165		
		7.3.5 Verwendete Instrumente	167		
	7.4	AUZ und DLS	167		
	7.5	Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentrationen	168		
8	Zus	ammenfassung	171		
9	Anh	ang	175		
	9.1	Publikationen	175		

9.2	Abkürzungsverzeichnis	176
9.3	Englische Kurzfassung (Abstract)	182

# Kapitel 1

# **Einleitung**

Das zentrale physikalische Phänomen in dieser Arbeit ist die Selbstdiffusion. Die Messung von lateralen Teilchenbewegungen im molekularen und mesoskopischen Größenbereich mit Hilfe neuer Analysenmethoden steht deshalb hier im Mittelpunkt. Dabei werden Nanokapseldispersionen und Emulsionen als Modellsysteme untersucht.

Nanokapseln sind Objekte der Nanotechnologie und werden zur Zeit hauptsächlich im Hinblick auf die Anwendung als *Drug-Targeting-*Systeme im pharmazeutischen Bereich untersucht. Sie sind ein besonderer Typ von Nanopartikeln, die im Gegensatz zu den meisten verwendeten soliden Partikeln einen flüssigen Kern besitzen <sup>1.1</sup>. In ihrem Inneren können lipophile pharmazeutische Wirkstoffe gelöst werden, deren Freisetzung und Wirkung dann durch eine Polymerwand gesteuert wird.

Bislang werden im Bereich von Diffusionsmessungen häufig Verfahren wie die *Tracer-Exchange* Methode, *Thermal-Neutron-Scattering* Methode oder die verschiedenen Lichtstreuungsverfahren verwendet <sup>1.2</sup>. Zur simultanen Untersuchung von Diffusionsverhaltensweisen verschiedener Molekülkomponenten in festen und

flüssigen Materialien hat sich in den letzten Jahrzehnten die Pulsed-Field-Gradient NMR Spektroskopie erfolgreich etabliert. Mit ihrer Hilfe werden hier unter anderem Austauschvorgänge von lipophilen Modellwirkstoffen und Tensidadsorptionen in Nanokapseldispersionen untersucht. Im Blickfeld der Fragestellung steht dabei besonders der Einfluss von unterschiedlich aufgebauten Wänden und oberflächlich gebundenen Tensiden auf die Freisetzung der Moleküle. Anhand der Diffusion des Öls in den Kapselhohlräumen sollen die Größen von Nanokapseln bestimmt werden. Neben der NMR-Methode wird erstmals ein neues lichtmikroskopisches Verfahren zur Größenbestimmung vorgestellt: die Dynamic Nanosizing Microscopy. Dieses System wird im Rahmen der Arbeit zusätzlich mit gängigen Analysenmethoden wie der Dynamischen Lichtstreuung (DLS) und der Analytischen Ultrazentrifuge (AUZ) verglichen und dabei mit dessen Vorteilen präsentiert. Weiterhin werden wichtige kolloidchemische Aspekte wie die Alterung von Nanokapseldispersionen oder die Untersuchung der Reproduzierbarkeit ihrer Synthese durch eine Gegenüberstellung mit Literaturdaten überprüft. Im letzteren Fall erfolgt ein Vergleich der Auswirkungen verschiedener Rührwerke und Scherkräfte, die für die Synthese benötigt werden, und der daraus resultierenden Nanokapselgrößen.

#### Literatur:

- 1.1 **M.N.V. Ravi Kumar**, J. Pharm. Pharmaceut. Sci 3(2), 234-258, (2000)
- 1.2 **J. Kärger, D.M. Ruthven**: "Diffusion in Zeolithes and other Microporous Solids", John Wiley &Sons Inc., New York, (992)

## Kapitel 2

# Nanokapseln

## 2.1 Einführung

Seit einigen Jahren laufen in der pharmazeutischen Forschung Bestrebungen, polymere Trägermaterialien mit Wirkstoffen zu kombinieren, um die pharmakologische Wirksamkeit im menschlichen Organismus zu steigern. Diese Form der Wirkstoffmaskierung ist eine Alternative zu der bislang verwendeten Methode der *Carrier*gebundenen Prodrugs <sup>2.1</sup>. Bei der letzteren Methode wird der Wirkstoff chemisch mit einem *Carrier* (Träger) verknüpft, wobei dies die vorzeitige Metabolisierung (Abbauund Ausscheidungsvorgang in Organismen) verhindert. Die neuere Verknüpfung mit polymeren Trägermaterialien ist rein physikalisch, das heißt, die Pharmaka werden in die Matrix des Trägers eingeschlossen. Im Gegensatz zu den Prodrugs versucht man durch die Verknüpfung der polymeren Carrier mit Rezeptormolekülen eine gewebespezifische Anreicherung zu erreichen. Diese Idee wird auch als *drug targeting* bezeichnet <sup>2.2-2.4</sup>.

Die Wirkstoffmaskierung durch Trägersysteme und der sogenannte *controlled* drug release bietet große Vorteile zu den bisher verwendeten Applikationsformen von Pharmaka. Ein z.B. oral aufgenommer Wirkstoff muss mehrere organische

Barrieren überwinden, bevor er sein Zielorgan erreichen kann. Im Magen-Darm-Trakt wird er zunächst über die Magenschleimhaut, meist jedoch über die Schleimhaut des Dünndarms aufgenommen. Der Blutstrom transportiert den Wirkstoff weiter zur Leber, wo die erste Metabolisierung, der sogenannte *first pass* stattfindet, bei dem ein Wirkstoff durch die Enzyme der Leber bereits vollständig deaktiviert werden kann. Oft sind höhere bzw. mehrere Dosen notwendig um diese Barriere zu überwinden. Nachdem der Wirkstoff wieder die Blutbahn erreicht hat, warten weitere Barrieren auf ihn. Im Blutstrom müssen die Partikel u.a. gegen Makrophagen beständig sein. Auf dem Weg zum Zielort müssen sie anschließend Zellmembranen durchdringen, was lipophilen Verbindungen besser als polaren oder ionischen Molekülen gelingt. Diese letzte Vorraussetzung gilt auch bei der Aufnahme im Magen-Darm-Trakt <sup>2.5</sup>. Darüber hinaus ist die Blut-Hirn-Schranke ebenso eine biologische Barriere, die als undurchlässig für polare Moleküle größer als Harnstoff gilt <sup>2.5</sup>.

Durch die Maskierung des Wirkstoffs mit einem Trägermaterial können die obigen Problematiken weitestgehend überwunden werden. Die Anwendung von polymeren Nanopartikeln als Wirkstoffträger stellt allerdings einige Bedingungen an das Material und dessen physikalische Kenngrößen. Die Trägermaterialen müssen biologisch abbaubar und ungiftig sein <sup>2.4</sup>. Die maximale Korngröße der kolloidalen Arzneiform darf maximal 4 µm betragen, damit sie kleinste Blutgefäße passieren kann <sup>2.4</sup>. Zusätzlich müssen die Partikel im Blutstrom gegen das Immunsystem und dessen Makrophagen beständig sein. Als Trägermaterialien, die diese Bedingungen erfüllen, sind eine Vielzahl an natürlichen und synthetischen Polymeren bekannt <sup>2.6</sup>.

Liposomen sind kugelförmige Aggregate aus Phospholipiden mit Teilchendurchmessern von 25 nm bis 1  $\mu$ m, die wasser- und fettlösliche Wirkstoffe aufnehmen können  $^{2.3}$ . Man unterscheidet zwischen unilamellaren und multilamellaren Liposomen. Sie sind jedoch nur wenig temperaturbeständig und werden im Organismus relativ schnell chemisch abgebaut. Aus diesem Grund werden sie bislang nur zur äußerlichen Behandlung der Haut genutzt. Für weitere medizinische Anwendungen gelten Liposomen als sehr limitiert, da ihre Kapazitäten für die Wirkstoffaufnahme gering sind und auch eine großtechnische Produktion sich nur schwer verwirklichen lässt  $^{2.7}$ .

Nanopartikel bestehen im Gegensatz zu den Liposomen aus schwerer biologisch abbaubaren Polymeren oder festen Lipiden <sup>2.8</sup>. Ihre Depotwirkung für Wirkstoffe ist deshalb wesentlich größer und der Transport innerhalb des Organismus somit besser möglich. Die genaue Klassifizierung von Nanopartikeln ist bislang noch nicht vereinheitlicht; im Arbeitskreis wird die Einteilung von P. Couvreur und J. Kreuter bevorzugt, welche die Teilchen in Nanosphären und Nanokapseln unterscheidet <sup>2.4, 2.8</sup>.

Nanosphären sind kugelförmige Kolloidteilchen aus einem massiven Polymergerüst mit einem Radius kleiner 1  $\mu$ m. Der Wirkstoff kann im Polymergerüst eingeschlossen vorliegen, an der Partikeloberfläche adsorbiert werden oder zugleich in beiderlei Beladungsformen an die Teilchen gebunden sein <sup>2.4</sup>. G. Birrenbach und P. Speiser synthetisierten 1976 die ersten Nanosphären aus Polyacrylat <sup>2.9</sup>. Zeitgleich wurden auch Sphärensynthesen mit Acrylamid- und Methylmethacrylat-Monomeren vorgestellt <sup>2.10</sup>. Nanosphären aus Polyacrylat, Polyacrylamid und Polymethylmethacrylat sind jedoch nicht biologisch abbaubar und besitzen damit eine gewisse Toxizität für den Organismus. Ihre Polymerisation muss mit  $\gamma$ - oder UV-Strahlung, durch hohe Temperaturen oder durch Zugabe von Radikalen gestartet werden. Es ist verständlich, dass Wirkstoffe dabei zerstört werden können.

1979 berichtete P. Couvreur über Nanosphären aus Polyalkylcyanoacrylat (PACA), als Produkt einer wesentlich einfacher handhabbaren, anionischen Polymerisationsreaktion <sup>2.11</sup>. Die Sphären entstehen bei dieser Synthese, indem zunächst das Monomer unter Rühren in eine wässrige Tensidlösung getropft wird und sich dabei wasserunlösliche Monomertröpfchen bilden. Man nimmt an, dass dann Monomermoleküle durch die wässrige Phase in die ebenfalls vorhandenen Tensidmizellen diffundieren, und dort, durch Hydroxidionen (als Produkt der Autoprotolyse des Wassers) initiiert, polymerisieren <sup>2.12</sup>. Der Abbau dieser PACA-Nanosphären erfolgt im Körper innerhalb weniger Tage <sup>2.13</sup>.

Im Gegensatz zu den Sphären bestehen Nanokapseln nicht aus einem massiven Polymergerüst, sondern aus einer Polymerschicht PACA, die einen mit Öl gefüllten kugelförmigen Hohlraum umschließt. Erste genauere Untersuchungen zu Nanokapselsynthese veröffentlichten N. Al Khouri Fallouh et al. 1986 <sup>2.14</sup>. Bei dieser Synthese wird das Monomer zusammen mit dem Öl und Ethanol unter Rühren in eine wässrige Tensidlösung injiziert. Die dabei in einer Grenzflächen-Polymerisation entstehenden Nanokapseln enthalten dann das Öl und sind damit in der Lage, speziell fettlösliche

Wirkstoffe aufzunehmen. Aber auch hier ist nicht genau bekannt, ob der Wirkstoff einzig in diesem Hohlraum gespeichert wird.

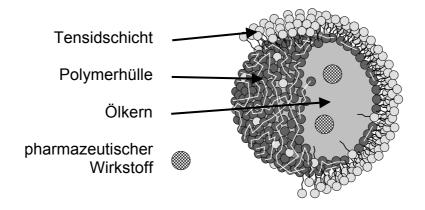
An dieser Stelle sollen noch die Mikrokapseln erwähnt werden. Sie sind schon wesentlich länger als die Nanokapseln bekannt und besitzen ebenfalls einen Hohlraum mit einer festen Hülle, z. B. aus PACA <sup>2.15</sup>. Aufgrund ihrer Größe (Radius > 1 µm) unterscheiden sie sich hinsichtlich der Anwendungsmöglichkeiten von den Nanokapseln. In der Medizin werden sie z. B. verwendet, um Flüssigkeiten in rieselfähige Pulver zu überführen, welche dann den Geschmack überdecken <sup>2.3</sup>. Andere nichtmedizinische Anwendungen sind z. B. die Mikroverkapselung von leichtlöslichen Düngerkörnern, von Vitaminen und Hormonen in Futtermittelzusätzen, aber auch für Reaktionsdurchschreibpapiere werden Mikrokapseln verwendet <sup>2.16</sup>. In einigen Publikationen werden Partikel im Nanometermaßstab als Mikrokapseln bezeichnet <sup>2.6</sup>. Für die Autoren genügte bei dieser Einteilung, dass die Partikel mit einer Polymerschale und einem festen Kern aus unterschiedlichen Materialien ausgestattet sind. Um Verwechslungen vorzubeugen, werden diese Partikel nach der Definition von P. Couvreur und J. Kreuter aufgrund ihrer Größe und des festen Kerninhalts hier den Nanosphären zugeordnet.

Die Anwendungsmöglichkeiten zielorientierter Arzneiformen sind sehr vielfältig. Im Rahmen der Entwicklung neuer Krebs-Chemotherapien wurde bereits in Tierversuchen an Ratten und Mäusen die Wirksamkeit von Nanopartikeln aus Polyalkylcyanoacrylat, beladen mit Antitumormitteln wie Doxorubicin, bestätigt. Man beobachtete sogar die vollständige Rückbildung eines Tumortyps <sup>2.8</sup>. Die Bedeutung des Wirkstoffträgers zeigte sich dabei, im Vergleich zur Anwendung des freien Wirkstoffs, zum einen in einer deutlich gesteigerten Wirksamkeit, und zum anderen darin, dass die Giftigkeit der Wirkstoffe für des restlichen Organismus stark unterdrückt wird. Die Therapie von Gehirntumoren mit den üblichen Wirkstoffen ist bislang stets durch die Blut-Hirn-Schranke verwehrt worden, so dass alleinig chirurgische Eingriffe oder Bestrahlungen zur Behandlung verblieben. 1997 wurden erstmals von mit Wirkstoffen wie Darlagin (verhindert enzymatische Abbaureaktionen bei Verletzungen des Nervengewebes) und Doxorubicin beladenen Nanopartikeln die Blut-Hirn-Schranke überwunden <sup>2.17, 2.18</sup>. Weitere potenzielle Anwendungsgebiete finden sich für Nanopartikel z. B. in der Behandlung von Diabetes. Hier erschwert die täglich notwendige

subkutane Injektion von Insulin das Leben der Betroffenen. Einen Ausweg dazu sucht man z.Z. mit Hilfe der Verwendung von Nanokapseln, in denen man Insulin einkapselt und so die orale Aufnahme ermöglicht <sup>2.19</sup>. Tierversuche mit an Diabetes erkrankten Ratten und Hunden erzielten hier erste Erfolge. Als eine Besonderheit wurden Nanokapseln sogar mit Hämoglobin beladen und über eine Anwendung als Blutersatzstoff nachgedacht <sup>2.20</sup>.

#### 2.2 Aufbau und Charakterisierung von Nanokapseln

Eine Nanokapsel besteht aus einer kugelförmigen Polymerschicht, die einen Öltropfen umgibt. In diesem Öl können lipophile Verbindungen gelöst sein. An der Oberfläche der Kapsel sind Tensidmoleküle angelagert, welche das Agglomerieren der Kapseln verhindern (Abbildung 2.1). Die Tenside erfüllen noch eine weitere wichtige Funktion. Ihr chemischer Aufbau tarnt die Kapseln vor den Makrophagen im Organismus <sup>2.21</sup>.



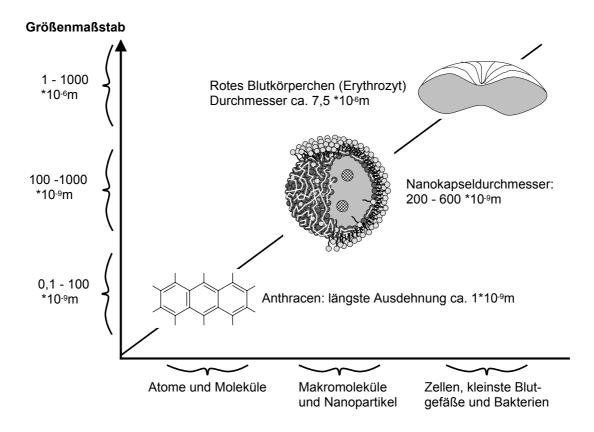
**Abb. 2.1:** Aufbau einer Nanokapsel: Eine Polymerschicht hüllt einen Öltropfen ein, in dem ein pharmazeutischer Wirkstoff gelöst ist. Auf der Oberfläche sind Tensidmoleküle gebunden.

Man charakterisiert Nanokapseln hauptsächlich nach ihrer Größe und der Molmassenverteilung der polymeren Wand. Von eher zweitrangiger Bedeutung sind physikalische Eigenschaften wie das Zeta-Potential und die Dichte der Kapseln sowie die Turbidität und der Brechungsindex ihrer Dispersionen. Die Eigenschaften Größe und Wandbeschaffenheit von Nanokapseln sind deshalb von entscheidender

Bedeutung, weil sie deren Aufnahmekapazität für Wirkstoffe, biologische Verträglichkeit sowie die Wirkstoffspeicherfähigkeit und -freisetzung kontrollieren.

Zur Größenanalyse von Nanokapseln werden mehrere Methoden verwendet. So wurde die Kapselgrößen bisher mit Hilfe der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM), der Rasterelektronenmikroskopie (REM), der Methoden der dynamischen Lichtstreuung (DLS) sowie der Ausschlusschromatographie-Vielwinkelstreulichtphotometer-Kopplung (SEC-MALLS) gemessen. Bei diesen Methoden ist der zeitliche Aufwand zu Bestimmung von Kapselradien relativ hoch und die Probenvorbeitungen meist aufwendig. REM und TEM sind besonders problematisch, da die Möglichkeit besteht, dass beide einen nur wenig repräsentativen Ausschnitt aus der Gesamtheit der Partikel vermessen. Zudem muss berücksichtigt werden, dass im Falle der REM-Aufnahmen die Partikel mit einer mehrere Nanometer dicken Goldschicht überzogen sind und deshalb der wirkliche Teilchenradius nur geschätzt werden kann. Die DLS-Methode liefert relativ schnell Radienverteilung, wird aber bezüglich ihrer Genauigkeit kritisiert <sup>2.22</sup>. Zur Messung von Nanokapseln ist sie nur begrenzt geeignet, weil sie Informationen über die Teilchendichten benötigt, was bei den aus mehreren Komponenten zusammengesetzten Nanokapseln schwer ermittelbar ist. Auch die SEC-MALLS-Methode liefert Verteilungen, ist aber aufgrund der Größe der Kapseln am Rande der methodischen Auflösung. 1997 wurde eine neue Methode zur Grössenbestimmung vorgestellt, bei der durch ein Dunkelfeldmikroskop die Brownschen Bewegungen der Kapseln analysiert wurden <sup>2,23</sup>. Die dunkelfeldmikroskopische Methode liefert dank der Rastervermessung der Probe einen größeren repräsentativen Ausschnitt, ist aber zeitaufwändig und misst keine Radienverteilungen. Fasst man die Ergebnisse aller verwendeten Methoden zusammen, so wurden bislang Kapselradien im Bereich von 200-600 nm hergestellt 2.14, 2.24-2.27. Welche Nanokapselradien entstehen, wird durch verschiedenste Parameter der Synthese bedingt, wie z.B. durch die Mengenanteile der Ausgangsverbindungen. Aufgrund ihrer Kapselgrößen werden ihre Dispersionen den kolloidalen Systemen zugeordnet, zu denen auch gelöste Makromoleküle gehören (siehe Abbildung 2.2).

Die Anwesenheit einer Polymerwand wird in der Literatur durch verschiedenste Messmethoden bestätigt. Durch Messungen der Turbidität (Bestimmung der Trübung eines Mediums durch Messung der Intensitätsabnahme eines durchfallen-



**Abb. 2.2:** Größenvergleich der Nanokapsel mit chemischen und biologischen Systemen.

den Lichtstrahls) wurden im Vergleich einer Emulsion zu einer Nanokapseldispersion unterschiedliche Trübungen gefunden, was durch den Einfluss der Polymere auf den Brechungsindex der Nanokapseln erklärt wurde <sup>2.28, 2.29</sup>. Auch Messungen des Zeta-Potentials (nach außen wirksames Potential eines Teilchens, das man durch mikroskopische Beobachtung seiner Wanderung im elektrischen Feld messen kann <sup>2.3</sup>) zeigten, dass Nanokapseln aufgrund der Polymerwand und der darin enthaltenen carbanionischen Polymerenden eine andere Oberflächenladung besitzen als die vergleichbaren Öltröpfchen der Nanoemulsion <sup>2.24</sup>. Die Schichtdicke dieser Wand wurde mit Hilfe der TEM auf etwa 3 bis 5 nm abgeschätzt <sup>2.14, 2.24</sup>.

Zur Molmassenbestimmung der Polymerschicht wird allgemein die SEC-MALLS-Methode genutzt. Die Molmasse ist ein wichtiges Charakteristikum der Kapselwand und entscheidet vermutlich auch über Eigenschaften wie Freisetzungsverhalten von Wirkstoffen und Stabilität der Dispersionen. U. Großpietsch findet in n-Butylcyanoacrylat-Nanokapseln ein Gewichtsmittel der Molmassen von 86.000 g/mol <sup>2.30</sup>. M. Gallardo et al. misst ein Gewichtsmittel der Molmassen von 156.000 g/mol in

einem vergleichbaren Nanokapselsystem <sup>2.26</sup>. Demnach sind im Gewichtsmittel etwa 500 bzw. 1000 Monomermoleküle in einem Polymerstrang der Wand integriert.

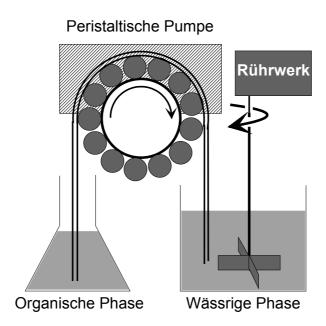
Zur Untersuchung des Wirkstofffreisetzungsverhaltens in Abhängigkeit von der Struktur der Wand gibt es nur wenige Arbeiten. Dabei wird meist ein spezielles Dialyseverfahren angewendet, bei dem sich eine Wirkstoff-Träger-Dispersion in einem Behälter mit einer Diaphragmawand befindet, welcher wiederum in einem pHgepufferten Bad schwimmt. Wird der Wirkstoff freigesetzt, so durchtritt er das Diaphragma und die zeitliche Veränderung seiner Konzentration im äußeren Behälter wird gemessen. So wurde das Freisetzungsverhalten von mit Doxorubicin beladenen Nanokapseln in Abhängigkeit von der Wandstärke und der Größe der Seitenketten der Polymerstränge untersucht <sup>2.31</sup>. Es zeigte sich, dass mit steigender Länge der Nebenkette die Releaserate abnimmt, woraus geschlossen werden kann, dass eine stärkere Vernetzung der Polymerketten innerhalb der Wand die Freisetzung der Wirkstoffmoleküle zunehmend behindert. Weiter wurde beobachtet, wie höhere Monomerkonzentrationen bei der Synthese ebenfalls die Releaserate sinken lassen. Hier wurde angenommen, dass die Wandstärke zunimmt, was wiederum die Diffusion der Wirkstoffmoleküle behindert. Diese Ergebnisse lassen auf einen diffusionskontrollierten Freisetzungsprozess schließen, bei welchem keine Erosion des Wandmaterials erfolgt (siehe auch Abbildung 2.1). Über den Einfluss des auf der Wand angelagerten Tensids auf den Freisetzungsprozess wurden lediglich Untersuchungen an Nanosphären durchgeführt 2.32. Vermutlich kann man jedoch diese Ergebnisse auf das Verhalten von Nanokapseln übertragen, da die Tensidmoleküle bei beiden Partikeltypen hauptsächlich auf der Oberfläche angelagert sind. So führten unterschiedlich aufgebaute Tenside zu verschiedenen Releaseverhalten. Dies mag durch die Konzentration bzw. Dichte der Tensidmoleküle an der Oberfläche, als auch durch die Stärke der Bindungen zur Wand bedingt sein.

Die Untersuchung der Dynamik von Molekülen wie jene des Öls und des Tensids an der Kapseloberfläche kann Rückschlüsse auf das Wirkstofffreisetzungsverhalten geben. Dazu entwickelte D. Hoffmann mittels der Festkörper-Kernmagnetische-Resonanz Spektroskopie eine spezielle Methode, welche Kontakte und Kontaktzeiten zwischen partikelgebundenen und freien Molekülen messen kann <sup>2.34</sup>. Er stellte dabei fest, dass die Tensidmoleküle sich nur etwa 0,5-1 ms lang auf der Ober-

fläche aufhalten und dann abgelöst werden. Dieser Prozess verdeutlicht, dass die sichere Einkapselung der Wirkstoffe hauptsächlich durch die polymere Kapselwand geschieht und die Tensidschicht nicht als eine rigide zweite Wand angesehen werden kann. Auch die eingeschlossenen Ölmoleküle besitzen Kontaktzeiten von 1-3 ms.

#### 2.2.1 Synthese und Bildungsmechanismus

1986 stellten N. Al Khouri Fallouh et al. eine Nanokapselsynthese vor, bei der zunächst eine organische und eine wässrige Phase separat hergestellt werden <sup>2.14,</sup> <sup>2.33</sup>. Die organische Phase enthält 4 ml Öl (Miglyol<sup>®</sup> 812 N), 0,5 ml Monomer (Isobutylcyanoacrylat) und 50 ml wasserfreies Ethanol und ist nach dem Vermischen der drei Komponenten völlig klar. Für die wässrige Phase werden 1 g eines nichtionischen Tensids (Synperonic<sup>®</sup> PE / F68) in 200 ml Wasser gelöst. Die organische Phase wird bei Raumtemperatur langsam durch ein Silikon-röhrchen mit einer feinen Spitze in die wässrige Phase injiziert (siehe Abbildung 2.3).



**Abb. 2.3:** Versuchsaufbau zur Nanokapselsynthese: Die organische Phase wird über eine peristaltische Pumpe mit konstanter Rate in die wässrige Phase injiziert. Ein Overhead-Rührwerk dispergiert die einströmenden Tropfen.

Um dabei eine gleichbleibende Injektionsrate zu erreichen, verwendet man zumeist peristaltische Pumpen. Während der Synthese hat die wässrige Phase ebenfalls Raumtemperatur und wird mit Magnetrührer und Rührkern oder einem Rührwerk gerührt. Die Dispersion wird nach der kompletten Umsetzung wahlweise eingeengt und anschließend mit einem Glasfiltertiegel (Porengröße 9-15 µm) gefiltert. N. Al Khouri Fallouh et al. maßen die Teilchengröße mit der Methode der dynamischen Lichtstreuung und erhielten Kapseldurchmesser von ca. 270 nm. Die Beobachtungen unter dem Transmissionselektronenmikroskop ergaben eine Wandstärke der Kapseln von ca. 3 nm.

1991 wurde die Synthesemethode erstmals abgewandelt, um die häufig beobachtete frühzeitige und deshalb störende Polymerisation des Monomers in der organischen Phase zu unterbinden <sup>2,25, 2,29</sup>. Diese Polymerisation wird vermutlich durch geringe Anteile an Wasser in der organischen Phase ausgelöst. Man beobachtet bei diesen vorzeitigen Polymerisationen Kettenlängen im Bereich von Oligomeren <sup>2,26</sup> bis in den Maßstab von Polymeren mit Molmassen bis zu 100.000 g/mol <sup>2,23, 2,29</sup>. Zur Unterdrückung dieses Effekts sättigten F. Chouinard et al. das flüssige Monomer mit SO<sub>2</sub>-Gas, bevor es in die organischen Phase gemischt wurde. Nach der Injektion der derart präparierten Phase wird das SO<sub>2</sub> durch den Kontakt mit der wässrigen Phase in Schweflige Säure umgewandelt und verliert dadurch seine Giftigkeit. Die Inhibitionswirkung auf die Polymerisation beruht vermutlich auf dem Absinken des pH-Werts bei der Bildung von Schwefliger Säure. Die Säure selber kann aufgrund ihrer geringeren Nukleophilie die Polymerisation nur noch schlecht initiieren und man beobachtet schließlich nur noch Oligomere mit Molmassen von rund 1.000 g/mol in der organischen Phase.

Wesentlich einfacher ist ein etwas später entwickelter Ansatz, bei dem die Polymerisation der organischen Phase mittels der Beigabe von 1,0 Vol-% verdünnter HCI-Lösung unterdrückt wird <sup>2,27</sup>. NMR-Untersuchungen ergaben, dass in der angesäuerten organischen Phase eine Reaktion zwischen Ethanol und dem Monomer n-Butylcyanoacrylat stattfindet, bei welcher ein einfaches Monomer-Ethanol-Additionsprodukt entsteht (siehe Abbildung 2,4). Dieses Molekül reagiert erst nach der Injektion in der wässrigen Phase unter Abspaltung des Ethanols, was ebenfalls durch NMR-Messungen belegt wurde. Hier ist der Grund für die Unterdrückung der Poly-

merisation vermutlich die Verschiebung des pH-Werts in der organischen Phase, wodurch die Zahl an Polymerisationsstartern wie OH<sup>-</sup>-Ionen abnimmt.

**Abb. 2.4:** Säurekatalysierte Reaktion von Ethanol mit n-Butylcyanoacrylat in der organischen Phase.

Nach der Injektion der organischen Phase findet die Polymerisation des Alkylcyanoacrylats an der Grenzschicht zwischen der organischen und der wässrigen Phase statt. Dies wird auch von A. T. Florence et al. bei der Bildung von PACA-Mikrokapseln beobachtet <sup>2.15</sup>. Die Reaktion der anionischen Polymerisation kann in mehrere Schritte unterteilt werden (siehe Abbildung 2.5). Zunächst initiieren nukleophile Anionen bzw. Moleküle den Kettenstart. Zu den potenziellen Startern gehören neben den Hydroxidanionen aus der Autoprotolyse des Wassers auch Ethanolmoleküle. In der anschließenden Reaktion des Kettenwachstums entstehen Polymere die auch als "lebendige" Polymere bezeichnet werden. Ihre Besonderheit sind die reaktiven Enden der Ketten, die durch Mesomerie oder aus sterischen Gründen stabilisiert sind und so nach dem Verbrauch aller Monomere erhalten bleiben können <sup>2.35</sup>. In Abbildung 2.6 wird der Kettenabbruch mit H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> ergänzend erwähnt, weil er auch zu erwarten ist.

Für den Bildungsmechanismus der Nanokapseln wurden bislang zwei Theorien veröffentlicht:

a) Die erste stammt von N. Al Khouri Fallouh et al. und beschreibt die Entstehung der Kapseln dadurch, dass zunächst das Öl in der wässrigen Phase zu nanometergroßen Tröpfchen emulgiert wird <sup>2.14</sup>. Während und nach dieser Tröpfchenbildung wandern die Monomermoleküle in die Grenzfläche zwischen den beiden Medien und stabilisieren diese aufgrund ihres amphiphilen Charakters <sup>2.35</sup>. In der Grenzfläche findet dann eine spontane Polymerisation statt und ein festes Geflecht aus langen Polymerketten entsteht (Abbildung 2.5). Die obige These, dass die Öltröpfchen die Größe der sich bildenden

Kapseln vorgeben, wird durch die Beobachtungen von V. Lenaerts et al. bestätigt <sup>2.25</sup>. Hier führte man Synthesen mit und ohne Monomeranteil durch und stellte fest, dass die gebildeten Öltröpfchen die gleiche Größe wie die entstehenden Nanokapseln besitzen.

#### a) Kettenstart:

#### b) Kettenwachstum:

#### c) Übertragungsreaktion:

$$RO-H_{2}C + C - CH_{2} + HOR \longrightarrow RO-H_{2}C + C - CH_{2} + OR$$

$$CO_{2}R' = CO_{2}R'$$

$$RO-H_{2}C + C - CH_{2} + C - CH_{2} + OR$$

$$CO_{2}R' = CO_{2}R'$$

#### d) Kettenabbruch

$$RO-H_{2}C + C - CH_{2} + CI^{-} + H_{3}O^{+} \longrightarrow RO-H_{2}C + C-CH_{2} + CI^{-} + CO_{2}R'$$

$$RO-H_{2}C + C - CH_{2} + CI^{-} + CO_{2}R'$$

$$RO-H_{2}C + C - CH_{2} + C - CH_{2} + CO_{2}R'$$

$$RO-H_{2}C + CO_{2}R' + CO_{2}R'$$

$$RO-H_{2}C + CO_{2}R' + CO_{2}R'$$

**Abb. 2.5:** Reaktionsmechanismus der anionischen Polymerisation von n-Butylcyanoacrylat: a) OH<sup>-</sup>- oder Alkoholatanionen initiieren den Kettenstart, b) beim Kettenwachstum werden Monomermoleküle an die carbanionischen Kohlenstoffatome addiert, c) durch Übertragungsreaktionen werden neue Startermoleküle erzeugt, d) durch H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> kann ein Kettenabbruch stattfinden.

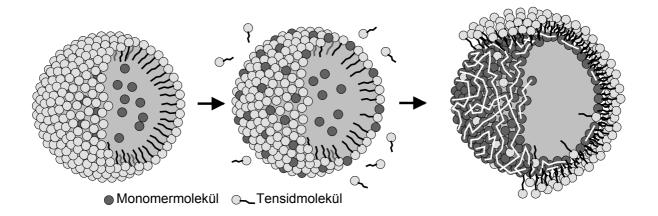
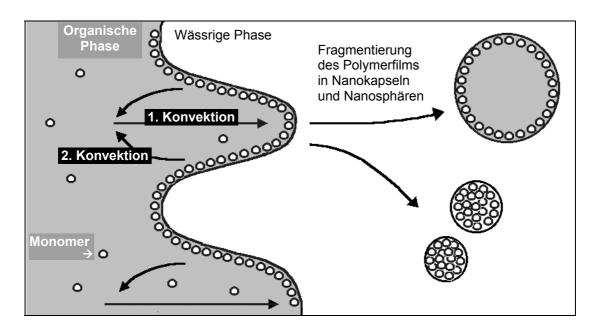


Abb. 2.6: Schematische Darstellung der Nanokapselentstehung durch anionische Polymerisation von Alkylcyanoacrylat an der Grenzfläche zwischen organischer und wässriger Phase nach dem Modell von N. Al Khouri Fallouh et al. <sup>2.14</sup>. Links: Primär wird ein Emulsionströpfchen gebildet in dessen Grenzschicht Tensidmoleküle das Tröpfchen stabilisieren. Mitte: Zunehmend diffundieren die amphiphilen Monomermoleküle in die Grenzschicht. Rechts: Durch die Polymerisation der Monomere wird die Nanokapselhülle gebildet.

Die zweite Theorie wurde von M. Gallardo et al. aufgestellt <sup>2.26</sup>. Demnach b) entsteht nach der Injektion der organischen Phase in die wässrige Phase zunächst eine Strömung innerhalb der organischen Phase aus Ethanol- und Monomer- bzw. Oligomermolekülen (Abbildung 2.7: 1. Konvektion), welche in Richtung der Grenzfläche der beiden Phasen verläuft. Die Ethanolmoleküle sind dabei vermutlich die treibende Kraft der Strömung, die durch den anfänglichen Konzentrationsunterschied zwischen der organischen und wässrigen Phase entsteht. Die mitgerissenen Monomer- bzw. Oligomermoleküle sammeln sich bei diesem Vorgang zunehmend in der Grenzfläche an, weil sie in der wässrigen Phase unlöslich sind. In Folge dieses schnellen Konzentrationswachstums entstehen Turbulenzen in der Grenzschicht, was man auch als Marangoni-Effekt bezeichnet (siehe Abbildung 2.7: 2. Konvektion) <sup>2.16</sup>. Die Turbulenzen führen zur Fragmentierung des Polymerfilms in der Grenzschicht und es entstehen Nanokapseln und, wie von M. Gallardo et al. beobachtet wurde, auch Nanosphären.



**Abb. 2.7:** Schematische Darstellung der Entstehung von Nanokapseln und Nanosphären durch die Fragmentierung des Polymerfilms nach dem Modell von M. Gallardo et al. <sup>2.26</sup>. Monomermoleküle werden von den in die wässrige Phase strömenden Ethanolmolekülen mitgerissen und sammeln sich in der Grenzschicht an (1. Konvektion). Durch die steigende Konzentration der Monomere in der Grenzschicht entstehen in der Schicht Turbulenzen (2. Konvektion), die schließlich zur Fragmentierung des Polymerfilms und der Bildung von Nanokapsel und -sphären führen.

## 2.2.1.1 Einfluss von Art und Menge des Monomeren auf die Kapselgröße

Bislang wurden Isohexylcyanoacrylat (IHCA) <sup>2.25, 2.29</sup> und Isobutylcyanoacrylat (IBCA) <sup>2.14, 2.24, 2.26, 2.29</sup> als Monomere für Nanokapselsynthesen eingesetzt. Durch die Nanosphärensynthesen sind zusätzlich auch Methylcyanoacrylat (MCA), Ethylcyanoacrylat (ECA) und n-Butylcyanoacrylat (BCA) bekannt, die ebenfalls im Organismus abgebaut werden können <sup>2.4</sup>. Der Einsatz der Monomere IHCA und IBCA bewirkt einen signifikanten Einfluss auf die resultierenden Kapselgrößen. Im Falle des IHCA wurden Durchmesser von etwa 220 ± 65 nm, für IBCA von 154 ± 34 nm mittels der Methode der Dynamischen Lichtstreuung gemessen. Scheinbar beeinflusst die Länge der Seitenkette die Kapselgröße, was sich lediglich anhand der Entstehungstheorie Gallardos erklären lässt <sup>2.26</sup>. Demnach sammeln sich die kürzerkettigen IBCA-Moleküle schneller in der Oberfläche als die IHCA-Moleküle und stabilisieren diese auch stärker. Die Turbulenzen in der Grenzfläche zwischen den beiden Phasen

durch die stärkere IBCA-Konvektion führen vermutlich zu einer stärkeren Fragmentierung des Polymerfilms und dadurch zu kleineren Kapseln.

Über die Wirkung unterschiedlicher Mengen an Monomeren auf die Kapselgröße findet man in der Literatur widersprüchliche Informationen. Verschiedene
Quellen berichten, dass mit zunehmender Monomermenge eine Verkleinerung der
Nanokapseln beobachtet wird <sup>2.24, 2.27</sup>. Als Grund dafür wird vermutet, dass das
Monomer die Freie Energie der Grenzfläche zwischen der organischen und der
wässrigen Phase herabsetzt und dadurch eine Vergrößerung der Grenzfläche
ermöglicht wird. Diese Betrachtung kann leicht mit beiden Entstehungstheorien in
Einklang gebracht werden. Die Beobachtungen von F. Chouinard et al. von 1991
belegen hingegen, dass Veränderungen der Monomermenge keine Änderungen der
Kapselgrößen verursachen <sup>2.25</sup>. Aufgrund der Beobachtung, dass trotz unterschiedlicher Monomerkonzentrationen die Anzahl an Nanokapseln konstant bleibt, wird
zunächst angenommen, dass sich lediglich die Dicke der Polymerschicht verändert.
Der Anstieg der Dichte von Nanokapseln bei steigender Monomerkonzentration wird
schließlich auch durch Dichtemessungen belegt <sup>2.29</sup>.

#### 2.2.1.2 Einfluss der Temperatur und des pH-Werts auf die Kapselgröße

Der Temperatureinfluss wurde untersucht, indem die Synthese in einem Bereich von 0 bis 90 °C durchgeführt wurde <sup>2.14</sup>. Man findet einen Anstieg der Kapseldurchmesser von 249 auf 334 nm mit steigender Temperatur. Gleichermaßen wuchs auch die Polydispersität, als Maß für die Breite der Größenverteilungen deutlich an. Die Polydispersität beschreibt das Verhältnis zwischen Gewichts- und Zahlenmittel einer Verteilung. Ein Wert von 1 steht für eine monodisperse Verteilung, in der alle Partikel nur einen gemeinsamen Radius besitzen. Mit ansteigender Temperatur wird hier ein Zunahme von 1 bis 4 beobachtet, was einer starken Verbreiterung der Verteilung entspricht. Ein Grund für den Anstieg ist bislang nicht bekannt.

Im Gegensatz zur Temperatur hat der pH-Wert der wässrigen Phase keinen Einfluss auf die Nanokapselgröße, was durch Synthesen bei pH-Werten von 1 bis 10

gezeigt wurde <sup>2.14, 2.25</sup>. Man konnte lediglich beobachteten, dass unterhalb des pH-Werts 4 wiederum die Polydispersität steigt. Die Konzentration an H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>-Ionen hätte, nach Vermutungen von V. Lenaerts et al., hauptsächlich einen Einfluss auf die Reaktionskinetik <sup>2.25</sup>. Hohe Konzentrationen führen zu einem frühzeitigen Kettenabbruch der Polymerisation und damit zu niedrigen Polymermolmassen.

## 2.2.1.3 Einfluss des Öl-Ethanol-Verhältnisses auf die Kapselgröße

Das Verhältnis von Öl zu Ethanol nimmt den stärksten Einfluss auf die Größe der Nanokapseln, wie im Rahmen mehrerer Untersuchungen gezeigt werden konnte 2.14, 2.25, 2.26

Wenn der Anteil des Ethanols in der organischen Phase zu gering ist (<10 % bezüglich des Gesamtvolumens aus organischer und wässriger Phase), dann bilden sich bei der Synthese keine Nanokapseln, sondern große Flocken <sup>2.14</sup>. Mit steigendem Anteil an Ethanol bzw. mit sinkendem Ölanteil werden die Nanokapseln deutlich kleiner <sup>2.14, 2.25, 2.26</sup>. Dieser Effekt lässt sich anhand beider in Kapitel 2.2.3 vorgestellten Bildungstheorien erklären.

Nach der Theorie von Al Khouri Fallouh et al. hängt die Größe der Nanokapseln einzig von der Öltröpfchengröße ab. Wird eine organische Phase mit geringerem Ölanteil in die wässrige Phase eingebracht und das Rührelement verteilt die einzeln injizierten Tröpfchen mit stets gleichen Scherkräften, so wird die geringere Ölmenge des Tröpfchens stärker verteilt und es bilden sich kleinere Nanokapseln.

Gemäß der Theorie von M. Gallardo et al. verursacht ein größerer Ethanolanteil eine geringere Viskosität in der organischen Phase. Dies bedingt ein stärkeres Auftreten von Strömungen in dieser Phase und damit eine stärkeres Fragmentieren des Polymerfilms. Die nun in größerer Anzahl gebildeten Fragmente, also Nanokapseln und Nanosphären, müssen folglich kleiner werden.

Ein Extremfall stellt die völlige Abwesenheit von Öl dar. Man beobachtet nicht mehr die Bildung von Nanokapseln sondern von Nanosphären <sup>2.26, 2.29</sup>.

Der andere Extremfall ist das Fehlen des Ethanols. Nun fällt die Fähigkeit des Ethanols weg, auf das Monomer in der organischen Phase lösungsvermittelnd zu wirken. Dadurch bilden sich im Öl Monomertröpfchen <sup>2.26</sup>. Außerdem entfällt gemäß

der Bildungstheorie von M. Gallardo et al. (siehe Abschnitt 2.1.3) nach dem Eintrag in die wässrige Phase jene vom Ethanol verursachte Strömung, welche die Monomermoleküle in die Grenzschicht zwischen organischer und wässriger Phase transportiert. Daher können nur relativ wenige Monomermoleküle in der Grenzschicht zur Polymerisation initiiert werden, was wiederum zu größeren Polymermolmassen führt, die dann auch beobachtet werden <sup>2.26</sup>. Es werden in der Literatur keine klaren Aussagen über die Gestalt der hier gebildeten Nanopartikel gemacht. Aufgrund ihrer geringen Größen von ca. 50 bis 80 nm liegt jedoch der Verdacht nahe, dass hier nicht Nanokapseln, sondern ebenfalls Nanosphären vorliegen. Dies wird dadurch bestätigt, dass bei der ethanolfreien Synthese der Ölanteil häufig fast vollständig phasensepariert an der Oberfläche des Ansatzes wiedergefunden wird <sup>2.26</sup>.

#### 2.2.1.4 Einfluss von Art und Menge des Tensids auf die Kapselgröße

Die Menge des Tensids übt auf die Kapselgröße offensichtlich keinen Einfluss aus <sup>2.14, 2.25</sup>. Anscheinend entscheidet der Polymerisationsgrad in der Polymerschicht über die Affinität der Tenside zur Kapseloberfläche.

Es wurde beobachtet, dass sich das nichtionische Tensid Synperonic PE/F68<sup>®</sup> stärker auf den Oberflächen von Nanokapseln anlagert, wenn deren Polymer größere Molmassen besitzt <sup>2.29</sup>. Nanokapseln mit niedermolekularen Polymeren binden Tensidmoleküle schwächer und besitzen folglich auch eine weniger dicht besetzte Tensidschicht. Ein Grund für dieses Verhalten wird in der Literatur nicht angegeben.

Auch die Art des Tensids entscheidet über dessen Adsorptionsverhalten auf der Kapseloberfläche. Das meist verwendete Synperonic PE/F68<sup>®</sup> stammt aus einer Reihe von Block-Copolymeren und besitzt eine mittlere Molmasse M<sub>W</sub> von 8350 g/mol <sup>2.36</sup>. Die Block-Copolymere bestehen aus zwei terminalen Polyethylenoxidketten (PEO) und einer zentralen Polypropylenoxidkette (PPO), wobei der Anteil an Ethylenoxid 80-89 % beträgt (siehe Abbildung 2.8).

$$H + O - CH_2CH_2 + O - CHCH_2 + O - CH_2CH_2 + OH$$

**Abb. 2.8:** Struktur des nichtionischen Tensids Synperonic<sup>®</sup> PE / F68: Das Polymer besteht aus einem zentralen hydrophoben Polypropylenoxidblock und zwei terminalen hydrophilen Polyethylenoxidblöcken.

Über die Verwendung unterschiedlicher Synperonic-Tenside wurde berichtet, dass mit sinkendem PPO-Anteil die Affinität zu den Öltropfen geringer wird <sup>2.29</sup>. Unterhalb eines gewissen Anteils werden schließlich die Öltröpfchen nicht mehr stabilisiert und laufen zusammen <sup>2.25</sup>. Die Bildung von Nanokapseln findet dann nicht mehr statt. Demgegenüber wird an anderer Stelle berichtet, dass bei der Abwesenheit von Tensiden die Kapseln während der Lagerung zu großen Clustern agglomerieren <sup>2.14</sup>.

#### 2.3 Stabilität von mesoskopischen Systemen und Wirkstofffreisetzung

Der Vorgang der Wirkstofffreisetzung ist eng an die Stabilität der Nanopartikel gebunden. Die Partikel sollten idealerweise solange stabil bleiben, bis sie ihren Zielort im Organismus erreicht haben. Im Organismus wird die Stabilität von systemeigenen Faktoren bedingt, wie z.B. die Resistenz der Partikel gegen das Immunsystem. Über diese Aspekte wird hier nicht eingehend berichtet, anstelle dessen wird besonders auf die Stabilitäten von Dispersionen bei längerer Lagerung eingegangen. Anschließend werden die verschiedenen bekannten Arten der Wirkstofffreisetzung aus Nanosphären und Nanokapseln diskutiert.

Suspensionen von Nanosphären in Flüssigkeiten, Emulsionen aus flüssigen Lipiden in Flüssigkeiten und Nanokapseldispersionen in Wasser, welche weder eindeutig dem Typ Suspension oder Emulsion zugeordnet werden können, sind thermodynamisch nicht stabil. Die Systeme neigen dazu, die Oberfläche zwischen ihren beiden Komponenten zu verringern. Bei dieser Phasenentmischung minimiert sich die freie innere Energie F bei konstanter Temperatur:

$$dF = dU - T \cdot dS$$
 mit  $dU = dQ + p \cdot dV + \gamma_O \cdot d\sigma$ . (2.1)

Hier wird angenommen, dass die Größen Wärmeaustausch dQ, Volumenänderung dV und Entropieänderung dS während der Phasenentmischung Null sind. Damit verbleibt nur die Oberflächenarbeit mit dem Produkt aus  $\Delta\sigma$  für die Oberflächenänderung und  $\gamma_O$  als Oberflächenspannung und man erhält:

$$dF = \gamma_O \cdot d\sigma \quad \text{oder für } \gamma_O = \text{konst:} \quad \Delta F = \gamma_O \cdot \Delta \sigma \quad . \tag{2.2}$$

Für die Zustandsfunktion F bedeutet ein negativer Wert  $\Delta F$ , dass der Vorgang thermodynamisch begünstigt ist und spontan abläuft. Bei einer Verkleinerung der Oberfläche zwischen den beiden Phasen ergibt sich ein negativer Wert für  $\Delta \sigma$ , aus dem, da die Oberflächenspannung  $\sigma > 0$  ist, ein negatives  $\Delta F$  resultiert.

Der Vorgang der Phasenentmischung kann in die Prozesse Reifung und Koaleszenz bzw. Sinterung unterschieden werden <sup>2.37</sup>.

Die Reifung, auch als Ostwaldsche Reifung bezeichnet, findet in Emulsionen und Suspensionen statt, hier betrachten wir nur den Vorgang in Emulsionen. Als grundlegende Bedingungen müssen in der Emulsion eine Größenverteilung der dispergierten Tröpfchen vorliegen und die Moleküle in den Tröpfchen eine gewisse Löslichkeit im umgebenden Medium besitzen. Betrachtet man nun einen kleinen und einen großen Tropfen im Vergleich, so ist die spezifische Oberflächenenergie bei dem kleinen Tropfen aufgrund der stärkeren Krümmung größer. Daraus resultiert ein größerer Dampfdruck der eingeschlossenen Moleküle, die deshalb verstärkt den Tropfen verlassen. Die Differenz der Dampfdrücke bewirkt eine Migration von Molekülen von den kleinen zu den größeren Tröpfchen. Auf diese Weise schrumpfen die kleinen Tropfen bis zu ihrer Auflösung, während die großen Tropfen solange wachsen, bis sich die beiden Phasen vollständig entmischt haben und keine Tropfen mehr existieren. Die Geschwindigkeit dieses Vorgangs hängt von der Dampfdruckdifferenz zwischen den unterschiedlich großen Tröpfchen ab. Je geringer die Differenz ist, desto langsamer wird der Vorgang der Entmischung. Im Falle einer Suspension wird bei diesem Modell nicht der Dampfdruck, sondern die Löslichkeit der an den Partikeloberflächen gebundenen Moleküle betrachtet.

Der Koaleszenzvorgang einer Emulsion ist vergleichbar mit dem Agglomerationsprozess in einer Suspension. Kleine Feststoffpartikel vereinen sich und bilden ein größeres Teilchen. Bei Emulsionen stossen zwei Tröpfchen aneinander und bilden ein neues Tröpfchen. Würden zwei gleichgroße Tropfen vereinigt werden, so ist die neue Oberfläche rund 41% kleiner als die Summe der Oberflächen der beiden einzelnen Tropfen.

Im Falle der Nanokapseln ist nur die Destabilsierung der Dispersion durch Agglomerationen denkbar. Untersuchungen dazu wurden noch nicht durchgeführt. Bislang wird allgemein vermutet, dass die Stabilität der Nanokapseldispersionen durch die Tensidschicht garantiert wird <sup>2.14</sup>. Der Einfluss der Polymerwand auf die Stabilität ist unbekannt. Es kann jedoch angenommen werden, dass eine Alterung durch die Ostwaldsche Reifung sehr unwahrscheinlich ist, weil die schrumpfenden Nanokapseln dafür ihre Polymerschicht entweder falten oder abstossen müssten. Die Problematik bei Alterungsprozessen von Nanokapseln liegt besonders in der Entstehung von Agglomeraten, die eine große Gefahr bei der Applikation im Organismus darstellen, weil sie Embolien erzeugen können.

Den Destabilisierungs- bzw. Alterungsvorgängen wirken mehrere Effekte entgegen. Aus kinetischer Sicht stören die temperaturbedingten Brownschen Bewegungen die Vereinigung der Partikel. Bei der Vereinigung nimmt außerdem die Entropie des Systems ab, weil der Verteilungsgrad abnimmt. Mit der Entropieabnahme addiert sich ein positiver Beitrag zur freien inneren Energie (siehe Gleichung 2.1), was einem spontan ablaufenden Vorgang entgegenwirkt.

Kolloidpartikel, die aufgrund ihres chemischen Aufbaus elektrisch geladene Oberflächen ausgebildet haben, entwickeln elektrolytische Doppelschichten mit dem umgebenden Lösemittelmolekülen und den gelösten Gegenionen. Diese sich gegenseitig abstossenden Ladungsschichten der Partikel stabilisieren die kolloidale Verteilung, wobei man die interkolloidalen Wechselwirkungen mit Hilfe der DVLO-Theorie nach D. Derjaguin, L. Landau, E. Verwey, J. Th. G. Overbeek quantitativ beschreibt <sup>2.38-2.40</sup>.

Zur Stabilisierung von kolloidalen Partikeln in Dispersionen werden auch Oberflächenmodifizierungen angewendet, z.B. durch die Zugabe von geeigneten Tensiden <sup>2.38, 2.39</sup>. Die Stabilisierung der Nanokapseln durch nichtionische Tensidmoleküle lässt sich analog zu anderen Kolloiden über zwei Effekte erklären. Kommen sich zwei Kolloide mit ihrer Tensidschicht so nahe, dass ihre hydrophilen Enden (z.B. PEO) sich ineinander verschränken können, so nimmt zunächst die Entropie im System ab, weil sich die Ketten parallel anordnen. Man nennt die entgegenwirkende Kraft entropische Abstoßung <sup>2.38, 2.39</sup>. Gleichzeitig werden Lösemittelmoleküle aus dem Bereich zwischen den sich ordnenden terminalen PEO-Ketten verdrängt. Dies führt zur Entstehung eines osmotischen Gegendrucks, der den Rückfluss der Lösemittelmoleküle einleitet. Diese Osmose bewirkt ebenfalls eine Abstoßung zwischen den kolloidalen Teilchen <sup>2.41</sup>.

Für die Freisetzung des Wirkstoffs einer metastabilen Dispersion müssen andere Mechanismen einsetzen als die oben beschriebenen. Mit dem Begriff der Alterung beschreibt man die Entmischung bzw. Destabilisation der Phasen vor der Applikation. Dieser Vorgang führt dazu, dass eine Arzneiform nicht mehr im Organismus verwendet werden kann. Bei alterungsstabilen Dispersionen findet der Release von Wirkstoffen im Organismus statt und ist mit einer bekannten Kinetik verknüpft. Die Geschwindigkeit der Freisetzung wird mit verschiedenen Begriffen beschrieben. Sie sollen hier nur kurz vorgestellt werden <sup>2.3</sup>. Bei einem Substained Release wird der Wirkstoff relativ langsam und gleichmässig freigesetzt. Ein Burst Release beschreibt eine einmalige schlagartige Wirkstoffabgabe vom Träger. Weitere Typen sind der Prolonged Release mit einer lang anhaltenden konstanten Wirkstoffabgabe und der Delayed Release mit einer zeitlich verzögter Freigabe. Ganz allgemein unterscheiden sich die bekannten Freisetzungsmechanismen nach der Art der Trägermaterialien (siehe Abbildung 2.9). Man unterteilt sie grob in vier

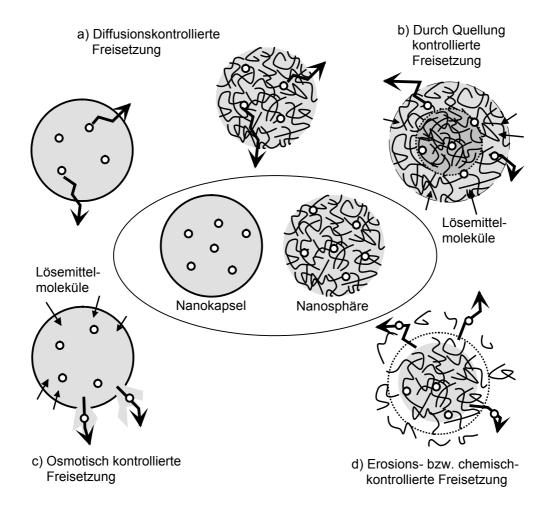
 a) Diffusion - der Wirkstoff diffundiert langsam durch Material und Phasengrenze ins umgebende Medium.

Prozesse, die den Release-Prozesse kontrollieren können 2.4, 2.42:

- b) Quellung Lösemittelmoleküle quellen die Trägermatrix auf, wodurch der Wirkstoff beweglicher und daraufhin freigesetzt wird.
- c) Osmose Lösemittelmoleküle dringen durch die Partikelwand ein und drücken die eingekapselte Wirkstofflösung durch Poren nach außen.
- d) Erosion oder chemische Reaktion das Trägermaterial wird abgebaut und der Wirkstoff freigesetzt.

Über die Art der Freisetzung entscheidet hauptsächlich die Art des Trägermaterials, aber auch die Größe des Wirkstoffs kann den Prozess beeinflussen.

Der *Release* in Nanosphären hängt vermutlich von der Wechselwirkung der umgebenden Flüssigkeit mit dem polymeren Matrixmaterial ab. Es ist auch möglich, dass zwei oder mehr dieser Mechanismen bei der Freisetzung beteiligt sind <sup>2.42</sup>. Die Prozesse sind bei Nanosphären wesentlich besser bekannt als bei Nanokapseln, worauf hier aber nicht weiter eingegangen werden kann <sup>2.4</sup>.



**Abb. 2.9:** Darstellung zu den verschiedenen Freisetzungsmodellen von Wirkstoffen bei Nanosphären und -kapseln (Erläuterungen im Text).

#### Literatur:

- 2.1 **R. B. Silverman**: "Medizinische Chemie", VCH Verlag, (1995)
- 2.2 **R. H. Müller, B.-R. Paulke,** Spekr. Wiss., 102-106, (1994)
- 2.3 **R. Voigt:** "Pharmazeutische Technologie", 7. Auflage, Ullstein Mosby, (1993)
- 2.4 **J. Kreuter**: "Nanoparticles", 219-342, in "Colloidal Drug Delivery Systems", Ed.: J. Kreuter, Dekker, New York, (1994)
- 2.5 **W. Dekant, S. Vamvakas**: "Toxikologie", Spektrum Akademischer Verlag, (1994)
- 2.6 **M. N. V. Ravi Kumar**, J. Pharm. Pharmaceut. Sci., 3(2), 234-258, (2000)
- 2.7 **P. Couvreur**, J. of Contr. Release, 17, 187-198, (1991)
- 2.8 **P. Couvreur**, CRC Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems., 5, 1-20, (1988)
- 2.9 **G. Birrenbach, P. Speiser**, J. Pharm. Sci., 65, 1763-1766, (1976)
- 2.10 **J. Kreuter, P. Speiser**, J. Pharm. Sci., 65, 1624-1627, (1976)
- 2.11 P. Couvreur, B. Kante, M. Roland, P. Guiot, P. Bauduin, P. Speiser, J. Pharm. Pharmcol., 31, 331-332, (1979)
- 2.12 **J. Kreuter**, Pharm. Acta Helv., 58, 196-209, (1983)
- 2.13 L. Grislain, P. Couvreur, V. Lenaerts, M. Roland,
   D. Deprez-Decampeneere, P. Speiser, Int. J. Pharm. 15, 335-345, (1983)
- 2.14 N. Al Khouri Fallouh, L. Roblot-Treupel, H. Fessi, J. Ph Devissaguet, F. Puisieux, Int. J. Pharm., 28, 125-132, (1986)
- 2.15 **A. T. Florence, T. L. Whateley, D. A. Wood**, J. Pharm. Pharmcol. Communications, 31, 422-424, (1979)
- 2.16 Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie,Verlag Chemie, Weinheim, 4. Auflage, (1972)
- 2.17 **U. Schröder, P. Sommerfeld, B. Sabel**, Petides, 19, 4, 777-780, (1998)
- 2.18 Pressemitteilung der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main,11-04-1997
- 2.19 **M. Aboubakar, F. Puisieux, P. Couvreur, C. Vauthier**, International J. of Pharm., 183, 63-66, (1999)
- 2.20 W. Yu. T. Chang Art. Cells, Blood Subs., And Immob. Biotech., 22(3), 889, (1994)

- 2.21 **S.M. Moghimi, I.S. Muir, L. Illum, S.S. Davis, V. Kolb Bachofen**, B.B.A., 1179, 157-165, (1993)
- 2.22 **H. Lange**, Part. Part. Syst. Charact., 12, 148-157, (1995)
- 2.23 **M. Wohlgemuth**, Diplomarbeit am Institut für Physikalische und Theoretische Chemie an der Universität Duisburg, (1997)
- 2.24 J. M. Rollot, P. Couvreur, L. Roblot-Treupel, F. Puisieux,J. Pharm. Sci., 75, 361-364, (1986)
- 2.25 **F. Chouinard, F. W. K. Kan, J.-C. Leroux, C. Foucher, V. Lenaerts**, Int. J. Pharm. 72, 211-217, (1991)
- 2.26 M. Gallardo, G. Couarraze, B. Denizot, I. Treupel, P. Couvreur, F. Puisieux, Int. J. Pharm. 100, 55-64, (1993)
- 2.27 **M. Wohlgemuth, W. Mächtle, C. Mayer**, J. Microencapsulation, 17, 4, 437-448, (2000)
- 2.28 **A. M. C. Griffin, W. G. J. Griffin**, J. Colloid Interface Sci., 104, 409-415, (1985)
- 2.29 **F. Chouinard, S. Buczkowski, V. Lenaerts**, Pharm. Res. 11, 6, 869-874, (1994)
- 2.30 **U. Großpietsch**, Diplomarbeit am Institut für Physikalische und Theoretische Chemie an der Universität Duisburg, (1997)
- 2.31 **M.S. El-Samaligy, P. Rohdewald, H.A. Mahmoud**, J. Pharm. Pharmacol., 38, 216-218, (1986)
- 2.32 **M. A. Vandelli, M. Fresta, G. Puglisi, F. Forni**, J. Microencapsulation, 5, 531-538, (1994)
- 2.33 **A. T. Florence, M. E. Haq, M. E and J. R. Johnson,** J. Pharm. Pharmcol. 28, 539-543, (1976)
- 2.34 **D. Hoffmann**, Dissertation am Institut für Physikalische und Theoretische Chemie an der Universität Duisburg, (2000)
- 2.35 H. G. Elias: "Makromoleküle", Hüthig & Wepf Verlag, Basel Heidelberg,2. Auflage, (1972)
- 2.36 Produktinformation zu Synperonic<sup>®</sup> PE / F68 (Pluronic) der Firma Fluka, Neu-Ulm
- 2.37 **D. H. Everett**: "Basic Principles of Colloid Science", Royal Society of Chemistry Paperbacks London, (1988)
- 2.38 **P. C. Hiemenz**: "Principles of colloid and surface chemistry", 2nd Edition

- Marcel Dekker, Inc., (1986)
- 2.39 **G. Brezesinski, H.-J. Mögel**: "Grenzflächen und Kolloide", Spektrum Akademischer Verlag, (1993)
- 2.40 **J. E. Verwey, J. Th. G. Overbeek**: "Theory of the Stability of Lyophobic Colloids", Elsevier, Amsterdam, (1948)
- 2.41 **D. Myers**: "Surfaces, Interfaces and Colloids", VCH Verlag, (1991)
- 2.42 **L. T. Fan, S. K. Singh**: "Controlled Release" Springer Verlag, Berlin Heidelberg, (1989)

# Kapitel 3

# Grundlagen der Diffusion

## 3.1 Einleitung

Bei der diffusiven Bewegung von mikroskopischen Teilchen kann zwischen den Prozessen der Selbstdiffusion und Transportdiffusion unterschieden werden <sup>3.1</sup>:

- a) Selbstdiffusion: Die Teilchen werden durch mikroskopische Dichteschwankungen im umgebenden Medium einer zufälligen Bewegung unterworfen. Man nennt die Selbstdiffusion auch Brownsche Bewegung oder *random walk*. Mathematisch teilt man diesen Prozess dem statischen Verhalten einer Markowschen Kette zu, bei welchem die zukünftige zeitliche Entwicklung nur durch die Gegenwart, nicht aber durch die Vergangenheit bestimmt ist <sup>3,2,3,3</sup>.
- b) Transportdiffusion: Hier bewegen sich die Teilchen in der Betrachtung des gesamten Systems scheinbar aufgrund äußerer Kräfte durch makroskopische Konzentrationsunterschiede. Die Natur ihrer Bewegung ist trotzdem die ungerichtete Selbstdiffusion der Teilchen <sup>3,4</sup>.

Zu Beginn befassen wir uns kurz mit der Transportdiffusion, um anschließend in den weiterführenden Kapiteln die Selbstdiffusion im Kontext verstehen zu können. Das erste Ficksche Gesetz ist die fundamentale Definition der Transportdiffusion <sup>3.5</sup>:

$$J = -D_{Transport} \frac{dc}{dx} . (3.1)$$

Hier ist J die Diffusionsstromdichte, c die Konzentration am Ort x und  $D_{\mathsf{Transport}}$  schließlich der Diffusionskoeffizient für die Transportdiffusion. Der Diffusionskoeffizient beschreibt hier, als teilchenspezifische Größe in Abhängigkeit von der Temperatur, seinen Einfluss auf den Stofftransport. Große und rigide Moleküle werden in geringeren Mengen entlang dem Konzentrationsgefälle transportiert, als kleinere, mobilere Moleküle.

Während das 1. Ficksche Gesetz das Verhalten von Teilchen im Konzentrationsgradienten erklärt, lässt sich die thermodynamisch treibende Kraft F des Vorgangs aus der Änderung des chemischen Potentials  $\mu$  deuten <sup>3.5</sup>:

$$F = -\left(\frac{\partial \mu}{\partial x}\right)_{p,T} . \tag{3.2}$$

Hier beschreibt das chemische Potential den Energie- und Entropieinhalt eines gelösten Teilchens in Abhängigkeit von seiner Aktivität a und seiner Temperatur T mit  $\mu=\mu^{\theta}+RT\cdot ln(a)$ . Mit  $\mu^{\theta}$  wird dabei ein Standardzustand (a = 1 mol/kg) als Bezugspunkt festgesetzt. Die Aktivität selbst ist hier eine Funktion vom Ort x, sie entspricht in Gleichung 3.1 der Konzentration.

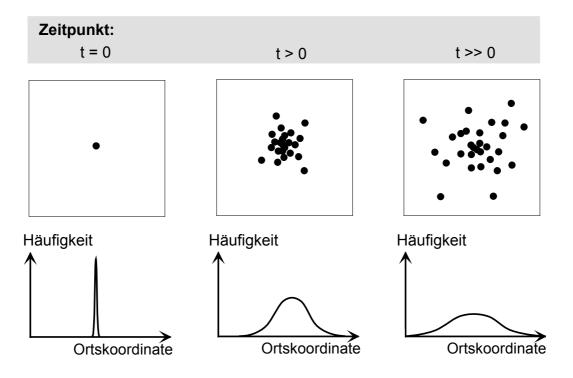
Betrachtet man Gleichung 3.2 mehr phänomenologisch, so wird die Kraft F durch das Streben des Systems nach maximaler Entropie, also nach vollständiger Durchmischung und Ausgleich des Konzentrationsgradienten erzeugt.

#### 3.2 Freie Selbstdiffusion

Zum Verständnis des Ablaufs eines Selbstdiffusionsvorgangs sollen zu Beginn einige statistische Betrachtungen angestellt werden, welche schließlich zur Herleitung der Gaussverteilung führen <sup>3.5, 3.6</sup>. Anschließend wird die freie Selbstdiffusion aus physikalischer Sicht erklärt.

## 3.2.1 Die mathematische und statistische Betrachtung

Betrachtet man ein Ensemble an Teilchen, das zum Zeitpunkt t = 0 in einem Punkt konzentriert ist und lässt anschließend die Teilchen gemäß ihrer Brownschen Bewegung in den umgebenden Raum diffundieren, so findet man nach einer beliebigen Zeit t eine statistische symmetrische Verteilung der Teilchen im Raum um den Startpunkt (siehe Abbildung 3.1). Da das Ensemble aus voneinander unabhängigen Teilchen besteht, gilt die Form dieser Verteilung mathematisch ebenso für die Wahrscheinlichkeitsverteilung der Bewegung jedes einzelnen Partikels.



**Abb. 3.1:** Darstellung zum Diffusionsverhalten eines Ensembles von Teilchen in Abhängigkeit von der Zeit. Linkes Bild: Alle Teilchen sind in einem Punkt konzentriert. Mittleres und rechtes Bild: Die Teilchen verteilen sich mit zunehmender Zeit immer weiter in den umgebenden Raum.

Die Natur der Verteilungen in Abbildung 3.1 ist eine Gausssche Glockenkurve, sie soll nun nachfolgend anhand statistischer Erwägungen für eine eindimensionale Bewegung hergeleitet werden.

Gesucht wird eine Funktion P(t), welche die Wahrscheinlichkeit wiedergibt, ein Teilchen nach der Zeit  $\Delta$  im Abstand S vom Ausgangspunkt der Brownschen Bewegung wiederzufinden. Das Teilchen wird n Bewegungsschritte während der Zeit  $\Delta$  machen. Die Zeit  $\tau$  für jeden Sprung ist somit  $\tau = \Delta$  / n, der dabei zurückgelegte Weg hat die Länge d. Das Teilchen besitzt die Möglichkeit, von seinen n, Schritten n<sub>+</sub> Schritte nach rechts und n. Schritte nach links vom Ausgangspunkt zu laufen, dabei gilt:

$$n = n_{+} + n_{-}$$
 (3.3)

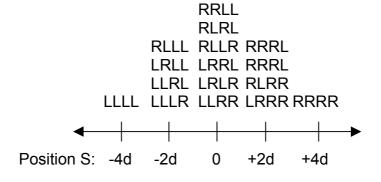
Demnach findet man nach einer Bewegung mit n Schritten das Teilchen mit einer Verschiebung S von

$$S = (n_{+} - n_{-}) \cdot d . {3.4}$$

Löst man Gleichung 3.4 nach  $n_-$  (bzw.  $n_+$ ) auf und setzt diesen Term in Gleichung 3.3 für  $n_-$  (bzw.  $n_+$ ), so erhält man:

$$n_{+} = \frac{1}{2} \cdot \left( n + \frac{S}{d} \right)$$
 ;  $n_{-} = \frac{1}{2} \cdot \left( n - \frac{S}{d} \right)$ . (3.5; 3.6)

In diesem Beispiel besitzt das Teilchen zwei Bewegungsoptionen (+ und -), zwischen welchen es sich n-mal entscheiden muss, wodurch sich insgesamt 2<sup>n</sup> Variationen ergeben. Zur Betrachtung der Vielfalt an Permutation einer solchen Bewegung ist in Abbildung 3.2 eine Wanderung mit 4 Schritten dargestellt.



**Abb. 3.2:** Wahrscheinlichkeitsverteilung nach einer 4-Schritte Wanderung

Die Reihenfolge, in welcher die Sprünge in positiver oder negativer Richtung erfolgen, ist für die Berechnung der Anzahl möglicher Kombinationen unwichtig, somit ergibt sich die Menge der Kombinationen von Schritte in positiver Richtung wie folgt <sup>3.7</sup>:

$$C_n^{(n_+)} = {n \choose n_+} = \frac{n!}{n_+! \cdot (n - n_+)!}$$
 (3.7)

Die Wahrscheinlichkeit P, ein Teilchen nach der Zeit t und n Schritten bei der Position x anzutreffen, berechnet sich aus Gleichung 3.7 nach:

$$P = \frac{C_n^{(n_+)}}{2^n} = \frac{\frac{n!}{n_+! \cdot (n - n_+)!}}{2^n} \quad . \tag{3.8}$$

Ersetzt man hier n<sub>+</sub> nach Gleichung 3.5, so erhält man:

$$P = \frac{n!}{\left(\frac{1}{2} \cdot \left(n + \frac{S}{d}\right)\right)! \cdot \left(\frac{1}{2} \cdot \left(n - \frac{S}{d}\right)\right)! \cdot 2^{n}}$$
 (3.9)

Zur Auswertung der Fakultäten nach einer größeren Anzahl an Bewegungschritten n kann hier die Stirlingsche Formel  $\left(\ln(x!)\approx\left(x+\frac{1}{2}\right)\cdot\ln x-x+\ln\sqrt{2\cdot\pi}\right)^{3.5}$  angewendet werden. Dazu wird Gleichung 3.9 zunächst logarithmiert:

In P = In n! - In 
$$\left(\frac{1}{2} \cdot \left(n + \frac{S}{d}\right)\right)!$$
 - In  $\left(\frac{1}{2} \cdot \left(n - \frac{S}{d}\right)\right)!$  - n In 2 . (3.10)

Anschließend werden die Fakultäten mit Hilfe der Stirlingschen Gleichung gelöst. Nach weiteren Umrechnungen ergibt sich:

In P = 
$$\ln\left(\frac{2}{\pi n}\right)^{\frac{1}{2}} - \frac{1}{2} \cdot \left(n + \frac{S}{d} + 1\right) \ln\left(1 + \frac{S}{nd}\right) - \frac{1}{2} \cdot \left(n - \frac{S}{d} + 1\right) \cdot \ln\left(1 - \frac{S}{nd}\right)$$
. (3.11)

Zur Vereinfachung wird nun  $\ln[1+S/(n\cdot d)]\approx 1$  gesetzt, da man davon ausgehen kann, dass  $S/(n\cdot d)<<1$  ist, weil sich ein Teilchen bei vielen Schritten n nur gering vom Ausgangspunkt entfernt. Dies führt zu:

In P = In 
$$\left(\frac{2}{\pi \cdot n}\right)^{\frac{1}{2}} - \left(\frac{S}{d \cdot \sqrt{2 \cdot n}}\right)^2 \Leftrightarrow P = \left(\frac{2}{\pi \cdot n}\right)^{\frac{1}{2}} e^{-\frac{\left(\frac{S^2}{d^2 \cdot 2 \cdot n}\right)}{2}}$$
 (3.12)

Schließlich wird noch n durch  $\Delta$  /  $\tau$  ersetzt, wodurch sich die Gaussverteilung einer Brownschen Bewegung ergibt:

$$P = \left(\frac{2 \cdot \tau}{\pi \cdot \Delta}\right)^{\frac{1}{2}} e^{-\left(\frac{S^2 \cdot \tau}{2 \cdot \Delta \cdot d^2}\right)}$$
(3.13)

Man beschreibt die Wahrscheinlichkeit, ein Teilchen nach einer endlichen Anzahl Bewegungsschritte in einem bestimmten Bereich wiederzufinden, als Propagator der Teilchenbewegung. Hier kann man demnach sagen, dass der Propagator eines frei selbstdiffundierenden Teilchens eine Gausskurvenform besitzt.

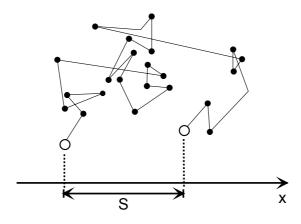
## 3.2.2 Der physikalische Hintergrund

Nachdem der englische Botaniker R. Brown 1827 <sup>3.8</sup> erstmalig die eigentümliche Zitterbewegung von mikroskopisch kleinen, in Flüssigkeiten suspendierten Teilchen beobachtet hatte, deutete man dieses Verhalten zunächst damit, dass die Teilchen lebendig seien und daraus die Bewegung resultiert. Später interpretierte A. Einstein dieses Verhalten als eine durch Wärme verursachte Bewegung im molekularen Bereich <sup>3.9</sup>. Aus dieser Erkenntnis entwickelte er 1905 die molekularkinetische Theorie der Wärme und stellte folgende Gleichung auf, die die Abhängigkeit der Bewegungen der Teilchen von der Temperatur, Viskosität und ihrer Größe darstellt:

$$R_{H} = \frac{R \cdot T \cdot \Delta}{3 \cdot \pi \cdot \eta \cdot N_{\Delta} \cdot \overline{S^{2}}} \quad . \tag{3.14}$$

Hierin enthalten ist der hydrodynamische Teilchenradius  $R_H$ , die Viskosität  $\eta$  des Mediums, die Avogadro-Konstante  $N_A$ , die Diffusionszeit  $\Delta$ , in der die Bewegungen beobachtet werden und S als die gemessene räumliche Verschiebung der Teilchen, welche sie in dieser Zeit erfahren. Die Brownsche Bewegung ist eine Zufallsbewegung, deshalb muss  $\overline{S}^2$  als Mittelwert der Quadrate mehrerer Einzelverschiebungen gebildet werden.

Abbildung 3.3 zeigt eine zweidimensionale Projektion der Teilchenbewegung, welche eigentlich in alle drei Raumrichtungen stattfindet. Diese Betrachtungsweise ist dem Blick ins Mikroskop angepasst, weil man auch dort nur eine ebene Projektion beobachten kann. Zur Erfassung der Verschiebung genügt es, eine willkürliche Achse (hier z.B. die x-Achse) anzulegen und die Verschiebung S der Teilchen parallel zu dieser Achse zu messen.



**Abb. 3.3:** Projektion der Brownschen Bewegung eines Teilchens zur Beschreibung der Verschiebungen S

Nach der Veröffentlichung der molekularkinetischen Theorie durch A. Einstein <sup>3.9</sup> wurde sie zunächst 1906 von M. v. Smoluchowski <sup>3.10</sup>, 1908 von P. Langevin <sup>3.11</sup> und schließlich 1910 von A. Einstein und L. Hopf <sup>3.12</sup> auf unterschiedliche Weise bestätigt und damit die Theorie weiter abgesichert. Eine modernere Erklärung zur Bownschen Bewegung liefert die Freie-Volumen-Theorie von M. H. Cohen und D. J. Turnbull <sup>3.13</sup>. Ihr Ansatz liefert leider einen für diese Arbeit nicht brauchbaren Zugang zum Begriff der Diffusion und wird deshalb nicht näher betrachtet. Die nun folgende Herleitung der Einsteinschen Gleichung (Gleichung 3.14) wurde aktuellen Lehrbüchern entnommen und bietet eine einfache und leicht nachvollziehbare Vorgehensweise an <sup>3.14-3.16</sup>.

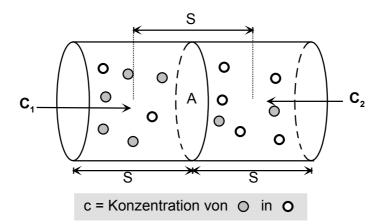
Grundlage zur Herleitung der Gleichung von A. Einstein bildet das erste Ficksche Diffusionsgesetz, das Stokessche Gesetz der laminaren Strömung um eine Kugel und einige statistische Überlegungen von A. Einstein bezüglich der linearen Verschiebung von Teilchen aufgrund ihrer Brownschen Bewegung.

Zur Verknüpfung des Diffusionskoeffizienten D mit der technisch messbaren Größe der räumlicher Verschiebung S wird zunächst das erste Ficksche Gesetz näher definiert:

$$J = \frac{dN}{A \cdot dt} = -D \cdot \frac{dc}{dx} \qquad \Leftrightarrow \qquad \frac{dN}{dt} = -D \cdot A \cdot \frac{dc}{dx} \quad . \tag{3.15}$$

Man erhält somit ein Gleichung, welche die Diffusionstromdichte J anschaulicher macht, da sie hier als eine Menge an Teilchen dN beschrieben wird, welche pro Zeiteinheit dt durch eine Flächeneinheit A transportiert wird. Der Differentialquotient dc/dx beschreibt das Konzentrationsgefälle, das in Höhe der Durchtrittsfläche A existiert.

A. Einstein hat zwei Darstellungen für D gegeben  $^{3.9}$ . Die erste entwickelt er aus der Annahme, dass ein Teilchen während der Diffusionszeit  $\Delta$  eine lineare Verschiebung S erfährt. Dazu denkt man sich einen waagerechten Zylinder mit einem Querschnitt der Fläche A, wobei links und rechts dieser Ebene der Zylinder in Abschnitte mit der Länge S eingeteilt wird (siehe Abbildung 3.3).



**Abb. 3.3:** Modell zur Beschreibung der linearen Verschiebung nach A. Einstein: Durch die graue Markierung werden chemisch gleiche Moleküle unterschieden, wodurch ein virtueller Konzentrationsgradient resultiert.

Zur Erzeugung eines Konzentrationsgradienten werden in der linken Zylinderhälfte mehr Moleküle grau markiert als in der rechten Hälfte  $^{3.4}$ . Die Konzentrationen an grau markierten Teilchen in den beiden Abschnitten des Zylinders sind  $c_1$  und  $c_2$ , wobei  $c_1 > c_2$  ist. Im gesamten Zylinder beträgt die mittlere Verschiebungsgeschwindigkeit der Moleküle S/ $\Delta$ . Für die Moleküle in beiden Abschnitten ist es gleich wahrscheinlich, dass sie sich nach links oder nach rechts bewegen. Damit ist die Anzahl an Teilchen pro Zeitintervall  $\Delta$ , die vom linken Abschnitt durch die Fläche A tritt, gegeben als  $\frac{1}{2}$ ·A· $c_1$ · (S/ $\Delta$ ).

Analog treten  $\frac{1}{2}\cdot A\cdot c_2\cdot$  (S/ $\Delta$ ) Teilchen pro Zeitintervall  $\Delta$  von rechts her durch die Ebene A. In einer Zeiteinheit dt erfolgt damit ein Übertritt von dN Teilchen von links nach rechts gemäß:

$$\frac{dN}{dt} = \frac{1}{2} \cdot \frac{A \cdot S \cdot (c_1 - c_2)}{\Delta} . \tag{3.16}$$

Zusätzlich lässt sich das Konzentrationsgefälle auch wie folgt darstellen:

$$\frac{dc}{dx} = \frac{c_2 - c_1}{S} \quad . \tag{3.17}$$

Die obigen Ausdrücke für dN/dt und dc/dx können nun in die Ficksche Gleichung 3.15 eingesetzt werden:

$$\frac{1}{2} \cdot \frac{A \cdot S \cdot (c_1 - c_2)}{\Lambda} = -D \cdot A \cdot \frac{c_2 - c_1}{S} . \tag{3.18}$$

An dieser Stelle ist es wichtig zu erwähnen, dass die eindeutige Verwendung der Fickschen Gleichung hier nur möglich ist, wenn der in ihr enthaltene Diffusionskoeffizient keine Transportgröße ist. Strenggenommen liegt hier kein Strofftransport vor, sondern eine spontane Teilchenverschiebung, die durch eine thermische Bewegung verursacht wird. Abbildung 3.3 zeigt eine Modellvorstellung, mit der man ein Konzentrationsgefälle erzeugen kann, das durch die Ficksche Gleichung charakterisiert wird. Der zugehörige Diffusionskoeffizient gilt ausschließlich zur Beschreibung der Selbstdiffusion und wird in dieser Arbeit fortan nur mit D bezeichnet. Nur bei

kleinen Konzentrationen der diffundierenden Spezies im umgebenden Medium, wenn Wechselwirkungen zwischen den Teilchen ausgeschlossen werden können, sind die Diffusionskoeffizienten für den Transport und die Selbstdiffusion gleich <sup>3,4</sup>. Bei der Untersuchung von Brownschen Kolloidbewegungen in dieser Arbeit gilt dieser Fall, weil durch eine ausreichende Verdünnung absichtlich die Wechselwirkungen zwischen den Teilchen ausgeschaltet werden.

Führt man nun die Umformung der Gleichung 3.18 fort, so erhält man:

$$D = \frac{S^2}{2 \cdot \Lambda} . \tag{3.19}$$

Diese Gleichung wird auch als das Diffusionsgesetz von A. Einstein und M. v. Smoluchowski bezeichnet. Unter der Berücksichtigung einer statistischen Verteilung von S wird S<sup>2</sup> durch das mittlere Verschiebungsquadrat  $\overline{S}^2$  ersetzt.

In A. Einsteins zweiter Darstellung für D wird ein mehr kinetisch begründeter Ausdruck hergeleitet. Zunächst nimmt man an, dass v die Geschwindigkeit sei, mit der eine Anzahl Teilchen pro Volumeneinheit c durch jene Fläche A (siehe auch Abbildung 3.3) diffundiert. So ergibt sich:

$$\frac{dN}{dt} = v \cdot c \cdot A . \qquad (3.20)$$

Für ein bewegtes Teilchen mit der Masse m kann folgendes Kräftegleichgewicht aufgestellt werden, aus dem sich v weiter definieren lässt:

$$\mathbf{m} \cdot \left(\frac{\mathbf{d}\mathbf{u}}{\mathbf{d}\mathbf{t}}\right) = \mathbf{F}_{\text{Teilchen}} - \Re \cdot \mathbf{v} . \tag{3.21}$$

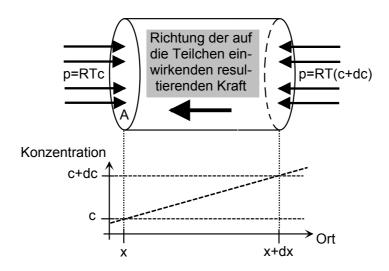
Hier sind die Größen  $\mathfrak R$  als sogenannter Widerstandsfaktor, der später noch näher erklärt wird, und  $F_{Teilchen}$  als die treibende Kraft enthalten. Im stationären Zustand gleichförmiger Geschwindigkeit ist dv/dt gleich null und die Geschwindigkeit der Teilchen wird durch das folgende Verhältnis wiedergegeben:

$$V = \frac{F_{\text{Teilchen}}}{\Re} . \tag{3.22}$$

Diese neue Umschreibung von v wird nun in Gleichung 3.20 eingesetzt:

$$\frac{dN}{dt} = \frac{F_{Teilchen} \cdot n \cdot A}{\Re} . \tag{3.23}$$

Was diese treibende Kraft  $F_{Teilchen}$  ist, lässt sich erneut anhand eines Zylinders mit einem Konzentrationsgefälle erklären (siehe Abbildung 3.4).



**Abb. 3.4:** Modell zur Entstehung der treibenden Kräfte von Teilchenverschiebungen in Konzentrationsgefällen.

In Höhe x herrscht die Konzentration c und auf Höhe von x + dx findet man eine Konzentration von c + dc. Die Werte x und x+dx grenzen im Zylinder einen Abschnitt mit zwei Grundflächen A ein. Auf diese beiden Begrenzungsflächen des Zylinderabschnitts wirken unterschiedliche Drücke. Bei x herrscht ein Druck  $p = R \cdot T \cdot c$  mit der zugehörigen Kraft von  $F_x=A \cdot R \cdot T \cdot c$  und bei x+dx ein Druck von  $p=R \cdot T \cdot (c+dc)$  mit der Kraft  $F_{x+dx}=A \cdot R \cdot T \cdot (c+dc)$ . Auf die Teilchen im Zylinderabschnitt wirkt damit eine resultierende Kraft  $F=-A \cdot R \cdot T \cdot dc$  in Richtung des Ursprungs der x-Achse. Die Anzahl der Teilchen im Zylinderabschnitt ist  $c \cdot A \cdot dx$ . Wenn sich nun 1 Mol Teilchen im Abschnitt befänden, würde auf diese Anzahl Teilchen eine Kraft von:

$$F_{m} = -\frac{A \cdot R \cdot T}{c \cdot A} \frac{dc}{dx} = -\frac{R \cdot T}{c} \frac{dc}{dx}$$
 (3.24)

einwirken.

Pro Teilchen beträgt die Kraft damit:

$$F_{\text{Teilchen}} = X = -\frac{R \cdot T}{c \cdot N_{\Delta}} \frac{dc}{dx} . \qquad (3.25)$$

Der Ausdruck für die treibende Kraft F<sub>Teilchen</sub> wird nun in Gleichung 3.23 eingesetzt:

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{R \cdot T}{c \cdot N_A} \frac{dc}{dx} \frac{n \cdot A}{\Re} . \tag{3.26}$$

Vergleicht man dieses Ergebnis mit dem Fickschen Gesetz (Gleichung 3.2), so folgt:

$$D = \frac{R \cdot T}{N_A \cdot \Re} . \tag{3.27}$$

Für die Bewegung einer Kugel mit dem Radius  $R_H$  in einem Medium mit einer Viskosität  $\eta$  hat G. G. Stokes gezeigt, dass für den Widerstandsfaktor  $\Re$  dieser Kugel folgendes gilt:

$$\Re = 6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot R_{H} . \tag{3.28}$$

Damit erhält man das Stokes-Einsteinsche Diffusionsgesetz:

$$D = \frac{R \cdot T}{N_A \cdot 6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot R_H} . \qquad (3.29)$$

Im Rahmen der PFG-NMR Messungen in dieser Arbeit wird häufig mit Hilfe dieses Diffusionskoeffizienten die Beweglichkeit von Molekülen bewertet. Nach der obigen Gleichung und Gleichung 3.19 findet man für große Moleküle und geringen Beweglichkeiten kleine Diffusionskoeffizienten und für kleine hoch bewegliche Moleküle große Diffusionskoeffizienten.

Für die Messung von Bewegungen anhand des mittleren Verschiebungsquadrats und der daraus folgenden Bestimmung des Radius wird zumeist eine weitere Form dieser Gleichung genutzt, die man erhält, indem in Gleichung 3.29 den Diffusionskoeffizienten durch Gleichung 3.19 ersetzt (siehe Gleichung 3.14).

### 3.3 Gehinderte Diffusion

Die Einführung von Barrieren in ein System, in welchem zuvor die Moleküle ungehindert diffundieren konnten, verändert zwar nicht den Charakter der Beweglichkeit der Moleküle bzw. ihren Diffusionskoeffizienten, es wird jedoch der Diffusionsprozess entscheidend gestört. Unter den dabei störenden Wechselwirkungen zwischen den Molekülen und der Wandoberfläche können folgende Fälle unterschieden werden <sup>3,4</sup>:

- a) Absorbierende Wände: Bei der Berührung der Wand werden die Teilchen gebunden, wodurch der Wert des Propagators in der Nähe der Wand stets verringert wird (siehe Abbildung 3.5, linkes Schaubild).
- b) Reflektierende Wände: Die Teilchen stoßen an die Wand und bewegen sich zurück in den Raum. Dies führt zu einem erhöhten Wert des Propagators der Teilchen in der Nähe der Barrieren (siehe Abbildung 3.5, rechtes Schaubild).
- c) Poröse Wände: Die Teilchen stoßen gegen die Wand, aber nur ein gewisser Anteil kann die Wand durchtreten. Der Rest an Teilchen wird reflektiert. Poröse bzw. teilweise reflektierende Wände sind eine Zwischenstufe zwischen reflektierenden und absorbierenden Wänden, wobei bei einem gewissen Verhältnis zwischen reflektierten und durchgelassen Teilchen die beobachtbare Verteilung mit einer Gaussverteilung identisch wird.

Diffusionsbewegungen in Materialien mit undurchlässigen Porenwänden zeigen zwei interessante Beobachtungsbereiche. Wenn der mittlere Weg der Teilchen während der Diffusionszeit  $\Delta$  wesentlich kleiner ist als die Porengrößen (Kurzzeit-Diffusion), so beobachtet man hier keine gehinderte Diffusion und Gleichung 3.19 ist gültig. Der messbare Diffusionskoeffizient D ist demnach gleich jenem für eine freie Diffusion  $D_{\text{frei}}$ . Lässt man die Teilchen über eine dermaßen langen Zeitraum diffundieren (Langzeit-Diffusion), dass ihr Weg in dieser Zeit deutlich größer ist als der Größenmaßstab der Poren, so finden vielfach Wandkontakte statt und der messbare Diffusionskoeffizient wird kleiner, was einer verlangsamten Bewegung der Teilchen entspricht. In diesem Fall liegt hier ein effektiver Diffusionskoeffizient  $D_{\text{eff}}$ 

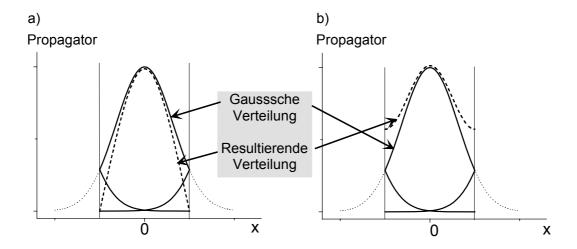


Abb. 3.5: Modellpropagator der Teilchenbewegung in einer Umgebung mit zwei reflektierenden Wänden. a) Absorbierende Wände: Die resultierende Verteilung ergibt sich, indem die nach innen gefalteten Ausläufer der Gausskurven von dem Hauptteil der Kurve subtrahiert werden. b) Reflektierende Wänden: Die auslaufenden Enden addieren sich zum Haupteil der Gausskurve, was zu einer höherliegenden resultierenden Kurve führt.

vor, welcher durch den Radius der sphärischen Pore  $R_P$  und durch die Diffusionszeit  $\Lambda$  definiert wird <sup>3.4</sup>:

$$D_{\text{eff}} = \frac{R_{\text{P}}^2}{5 \cdot \Lambda} \quad . \tag{3.30}$$

Selbstverständlich bewegen sich die Teilchen in Poren bei großen Diffusionszeiten mit der gleichen Beweglichkeit wie bei kurzen Zeiten, allerdings verändern die Wechselwirkungen mit den Wänden den messbaren Diffusionskoeffizienten.

Auch in Porensystemen mit permeablen Wänden kann zwischen dem Langzeit- und Kurzzeit-Diffusionsverhalten unterschieden werden. Für die kurzzeitige Bewegung findet man ebenfalls den Diffusionskoeffizienten des freien Mediums. Im Übergangsbereich zur Langzeit-Diffusion wird der messbare Diffusionskoeffizient durch die Teilchenkontakte mit den durchlässigen Wänden verkleinert. Bei langen Diffusionszeiten werden jedoch die Wände so häufig durchtreten, dass der Diffusionskoeffizient einen Grenzwert annimmt. Das System scheint dann wie bei Kurzzeit-Diffusionen keine Porenwände zu besitzen und eine freie, wenn auch deutlich verlangsamte Selbst-diffusion wird beobachtet.

## Literatur:

- 3.1 **G. M. Barrow**: "Physikalische Chemie", Bohmann-Verlag, Wien, (1977)
- 3.2 **E. Nelson**: "Dynamical theories of Brownian motion", Princeton University Press, (1972)
- 3.3 **P. Guttorp**: "Stochastic Modeling of Scientific Data", Chapman&Hall, London, (1995)
- 3.4 **J. Kärger, D. M. Ruthvew**: "Diffusion in Zeolithes and other microporous solids", John Wiley & Sons, Inc New York, (1992)
- 3.5 **P. W. Atkins,** Physikalische Chemie, VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim, Basel, (1990)
- 3.6 **P. C. Hiemenz**: "Principles of colloid and surface chemistry", 2nd Edition Marcel Dekker, Inc., (1986)
- 3.7 I. N. Bronstein, K. A. Semendjajew, G. Musiol, H. Mühlig, Taschenbuch der Mathematik, 4. Auflage, Verlag Harri Deutsch, (1999)
- 3.8 **R. Brown**, Phil. Mag., 4, 101, (1928)
- 3.9 **A. Einstein**, Ann. Phys., 17, 549-560, (1905); 19, 371-381, (1906)
- 3.10 **M. v. Smoluchowski**, Ann. Phys., 21, 756-780, (1906)
- 3.11 **P. Langevin**, Compt. Rend., 146, 530-533, (1908)
- 3.12 **A. Einstein, L. Hopf**, Ann. Phys., 33, 1105-1115, (1910)
- 3.13 **M. H. Cohen und D. J. Turnbull**, J. Chem. Phys. 31, 1164, (1959)
- 3.14 **S. Glasstone**: "Textbook of Physical Chemistry", 2. Auflage, (1966)
- 3.15 **E. A. Moelwyn-Hughes**: "Physikalische Chemie", Georg Thieme Verlag, Stuttgart, (1970)
- 3.16 **J. Eggert**: "Lehrbuch der Physikalischen Chemie in elementarer Darstellung", S. Hirzel Verlag, Stuttgart, (1968)

# Kapitel 4

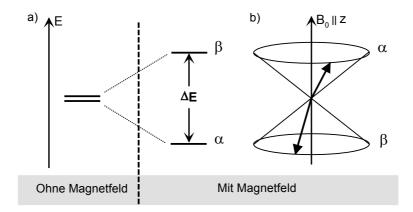
# **Angewandte NMR-Methoden**

### 4.1 Grundlagen

Die nachfolgenden Abschnitte bieten einen kurzen Einblick in die Grundlagen der Kernresonanzspektroskopie (*nuclear magnetic resonance* (NMR) spectroscopy). Alle angeführten Themen bilden die Basis zum Verständnis der verwendeten *Pulsed Field Gradient* NMR Technik, welche im anschließenden Kapitel erläutert wird <sup>4.1, 4.2</sup>.

### 4.1.1 Die Zeeman-Wechselwirkung

Atomkerne mit einem Kernspin I>0 zeigen in Magnetfeldern die Zeeman-Wechselwirkung. Die Kernspins  $I=^1/_2$  (z.B. Wasserstoff  $^1H$  und Kohlenstoff  $^{13}C$ ) richten dabei ihre magnetischen Momente parallel ( $\alpha$ ) bzw. antiparallel ( $\beta$ ) zum äußeren Feld aus und präzidieren wie Kreisel um die Richtung des Magnetfeldes (siehe Abbildung 4.1 b). Die entarteten Energieniveaus der beiden oben genannten Atomkerne werden dabei durch das Magnetfeld aufgespalten, wobei die parallele Ausrichtung ( $\alpha$ ) energetisch günstiger und die antiparallel ( $\beta$ ) ungünstiger ist (siehe Abbildung 4.1 a).



**Abb. 4.1:** Darstellung der Zeeman-Wechselwirkung: a) Aufspaltung in zwei Energieniveaus  $\alpha$  und  $\beta$  im Magnetfeld  $B_0$  mit einer Energiedifferenz von  $\Delta E$  b) Zugehörige Spinorientierung mit paralleler ( $\alpha$ ) und antiparalleler ( $\beta$ ) Ausrichtung zu  $B_0$ .

Die beiden unterschiedlichen Orientierungen der Spins im Magnetfeld entsprechen zwei verschiedenen energetischen Zuständen. Mit Hilfe des Zeeman-Hamilton-operators H können die Energieeigenwerte dieser Zustände berechnet werden:

$$\hat{\mathbf{H}} = -\gamma \cdot \hbar \cdot \mathbf{B}_0 \cdot \hat{\mathbf{I}}_z \qquad \text{mit } \hbar = \frac{\mathbf{h}}{2\pi}. \tag{4.1}$$

Hier beschreibt die Plancksche Konstante h die Energiequantelung. Das Gyromagnetische Verhältnis  $\gamma$  ist ein für jedes Element und Isotop charakteristischer Proportionalitätsfaktor und  $\hat{I}_z$  ist der Operator für die z-Komponente des Drehimpulses. Wie in Gleichung 4.1 dargestellt, wird mit zunehmender Magnetfeldstärke  $B_0$  die Aufspaltung  $\Delta E$  der Energieniveaus größer (siehe Abbildung 4.1 a). Auf die beiden Energieniveaus verteilt sich eine Population an Kernspins gemäß der Boltzmann-Verteilung:

$$\frac{N_{\beta}}{N_{\alpha}} = e^{-\frac{\Delta E}{kT}} \approx 1 - \frac{\gamma \hbar B_0}{kT} , \qquad (4.2)$$

wobei diese Gleichung zeigt, dass das energetisch günstigere  $\alpha$ -Niveau stärker besetzt wird. Dabei hängt der Besetzungsunterschied bzw. die Verteilung auf die Zustände sowohl von der Stärke des Magnetfeldes  $B_0$  als auch von der Temperatur T ab, k ist die Boltzmannkonstante.

Wie schon erwähnt, führen die Kernspins eine Präzessionsbewegung durch. Die Frequenz der Rotation (Larmorfrequenz)  $\omega_0$  ist proportional zur Stärke des äußeren Feldes:

$$\omega_0 = \gamma \cdot \mathsf{B}_0 \quad . \tag{4.3}$$

Betrachtet man das Magnetfeld etwas genauer, so muss man zwischen dem äußeren Magnetfeld  $B_0$  und dem an den Kernen wirkenden Magnetfeld  $B_{lokal}$  unterscheiden. Das Magnetfeld  $B_0$  wird durch die Wechselwirkung mit den Elektronen der Kernumgebung verändert. Dabei wird der Kernspin mit steigender Elektronendichte zunehmend abgeschirmt. Das lokale Magnetfeld  $B_{lokal}$  ist demnach schwächer als das  $B_0$ -Feld, wodurch auch eine kleinere Larmorfrequenz  $\omega_0$  resultiert und der energe-tische Unterschied  $\Delta E$  zwischen den Besetzungsniveaus abnimmt.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die Larmorfrequenz eines Kerns von der Größe  $\gamma$  und von der Stärke des lokalen Magnetfeldes  $B_{lokal}$  abhängt.

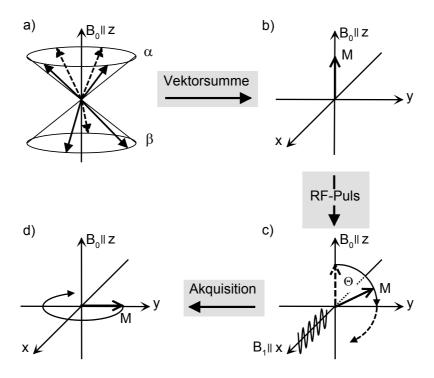
Zur Beurteilung der chemischen Umgebung eines Kerns wurde die chemische Verschiebung  $\delta_{Ch}$  als eine geräteunabhängige Größe eingeführt. Sie wird aus der Larmorfrequenz eines allgemein genutzten Standards  $\omega_S$  (z.B. die Frequenz der Protonen von Tetramethylsilan) und aus der gemessenen Larmorfrequenz des Kerns  $\omega$  berechnet, wobei ppm die Einheit von  $\delta_{Ch}$  ist:

$$\delta_{\text{Ch}} = \frac{\omega - \omega_{\text{S}}}{\omega_{\text{S}}} \cdot 10^6 \text{ ppm} . \tag{4.4}$$

# 4.1.2 Die Kernresonanz-Wechselwirkung und die Beobachtung der Larmorfrequenzen

Zur Detektion bzw. Akquisition der Larmorfrequenzen von Kernspins in einem Molekül wird das Boltzmann-Gleichgewicht im Magnetfeld  $B_0$  gezielt gestört. Dazu sendet man beispielsweise in x-Richtung (senkrecht zum  $B_0$ -Feld ( $B_0 || z$ )) ein Radiofrequenz- (RF-) Feld  $B_1$ , welches die Kernspins zu Übergängen zwischen dem  $\alpha$  und  $\beta$  Energieniveau anregt (siehe Abbildung 4.2). Aufgrund des geringen Energieunterschieds zwischen den beiden Niveaus finden sowohl Emissionen als auch

Absorptionen statt und das anregende Magnetfeld  $B_1$  ist in Resonanz mit den Kernspins. Die Spins ändern im Resonanzfall spontan ihre Orientierung, wodurch der Besetzungsunterschied zwischen den Niveaus ebenfalls verändert wird. Die Stärke des RF-Feldes  $B_1$  und die Zeitdauer  $\tau_p$ , in der es gesendet bzw. eingestrahlt wird, entscheidet wie stark der Besetzungsunterschied manipuliert wird. Der Besetzungsunterschied steht in direktem Zusammenhang mit der messbaren Gesamtmagnetisierung. Diese Gesamtmagnetisierung erhält man aus der Summe der Magnetisierungsvektoren der einzelnen Kernspins (siehe Abbildung  $4.2 \ a \rightarrow b$ ).



**Abb. 4.2:** Darstellung der Wirkung des  $B_1$ -Magnetfeldes: a) Die Besetzung der Spinzustände  $\alpha$  und  $\beta$  mit Kernspins im Gleichgewichtszustand. b) Die Vektorsumme der einzelnen Kernspins ergibt den Gesamtmagnetisierungsvektor M. c) Das  $B_1$ -Magnetfeld dreht den Vektor M mit dem Winkel  $\theta$  um die x-Achse. d) Die Rotation des Gesamtmagnetisierungsvektors M mit der Larmorfrequenz  $\omega_0$  um die z-Achse.

Dieser Gesamtmagnetisierungsvektor M wird durch die Wechselwirkung mit dem RF-Magnetfeld  $B_1$  um die x-Achse gedreht (siehe Abbildung 4.2 c). Der Winkel  $\Theta$  dieser Drehung ist:

$$\Theta = \gamma \cdot \mathsf{B}_1 \cdot \tau_\mathsf{P} \qquad . \tag{4.5}$$

Die Zeitdauer  $\tau_p$ , in welcher das RF-Feld eingeschaltet ist, beträgt normalerweise nur wenige  $\mu s$ , weshalb man auch von einem Radiofrequenz- (RF)-Puls spricht. Ein Winkel  $\Theta$  von 180° invertiert die ursprüngliche Gleichgewichtsverteilung, so dass das energieungünstigere Niveau stärker besetzt wird. Ein 90° RF-Puls erzeugt eine Gleichverteilung auf beiden Energieniveaus, wobei der maximale Wert für die Magnetisierungskomponente in y-Richtung erreicht wird.

Mit dem Einschalten des  $B_1$ -Magnetfeldes beginnt die Gesamtmagnetisierung bzw. die Quermagnetisierung ( $M \perp B_0$ ) um die z-Achse zu rotieren (siehe Abbildung 4.2 d). Da dieser Vektor M die Summe der einzelnen Spinvektoren ist, rotieren hier die Kernspins mit ihren typischen Larmorfrequenzen um diese Achse.

Die Messung bzw. Akquisition der unterschiedlichen Larmorfrequenzen bzw. unterschiedlich rotierenden Kernspins erfolgt analog zur Einstrahlung des  $B_1$ -Feldes in x-Richtung.

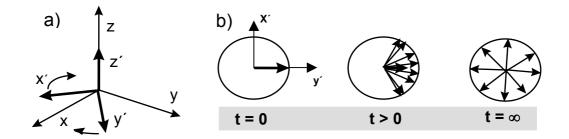
#### 4.1.3 Die Relaxation

Nach der Anregung beginnen unmittelbar die Relaxationsprozesse, welche das Spinsystem in seine ursprüngliche Gleichgewichtslage zurückführen. Die Relaxation wird in zwei Prozesse unterschieden, wobei die Einstellung der ursprünglichen Gleichgewichtsmagnetisierung in z-Richtung als longitudinale Relaxation und die Aufhebung der Spinkonzentration in der x/y-Ebene als transversale Relaxation bezeichnet wird.

Der longitudinale Relaxationsprozess (auch Spin-Gitter-Relaxation) ist im Experiment nicht direkt beobachtbar, weil er in z-Richtung stattfindet, man aber nur in x-Richtung observiert. Bei ihm findet ein Energietransfer statt, bei welchem im Allgemeinem an die Umgebung Energie abgegeben wird. Die Geschwindigkeit des Prozesses wird mit der  $T_1$ -Zeit charakterisiert. Deshalb wird die longitudinale Relaxation hier verkürzt  $T_1$ -Relaxation genannt.

#### 4.1.4 Die transversale Relaxation

Diese Form der Relaxation kann im Experiment direkt beobachtet werden und ist im Gegensatz zu  $T_1$ -Relaxation energieerhaltend. Zur leichteren Betrachtung dieses auch als Spin-Spin-Relaxation oder  $T_2$ -Relaxation bezeichneten Prozesses wird hier zunächst das rotierende Koordinatensystem als ein Hilfsmittel eingeführt. Nach einem 90° RF-Puls befindet sich die Gesamtmagnetisierung mit maximaler Amplitude in der x/y-Ebene. Anschließend präzidieren die Spins mit ihrer Larmorfrequenz (vom äußeren Magnetfeld  $B_0$  erzwungen) um die z-Richtung. Das rotierende Koordinatensystem rotiert mit der Larmorfrequenz um die z-Achse des Laborsystems (siehe Abbildung 4.3 a).



**Abb. 4.3:** Funktionsweise des rotierenden Koordinantensystems: a) Labor-koordinatensystem: x, y und z, - rotierendes Koordinatensystem: x', y' und z'. b) Verlauf der Dephasierung der Kernspins im rotierenden Koordinatensystem.

Dies macht die Betrachtung der T<sub>2</sub>-Relaxation einfacher, da die Spins bezüglich des neuen Koordinatensystems nicht mehr rotieren. Im Laufe der Zeit verlieren die Kernspins zunehmend ihre Synchronisation bzw. Kohärenz bei der Umrundung der z-Achse, im rotierenden Koordinatensystem zeigt sich dies durch das Auffächern der einzelnen Spins (Abbildung 4.3 b). Dieses Verhalten spiegelt die energieerhaltende Wechselwirkung des Spinsystems mit seiner Umgebung wider. Der Vorgang der Spin-Spin-Relaxation kann sowohl durch die Inhomogenitäten des Magnetfeldes als auch durch die dipolare Kopplung bewirkt werden.

Inhomogenitäten werden z.B. durch Suszeptibilitätssprünge (Phasengrenzen in der Probe), durch die Nachbarschaft zu anderen Kernen oder durch parama-

gnetische Substanzen bewirkt. In der NMR-Spektroskopie von Flüssigkeiten stellen die Inhomogenitäten den Hauptanteil für die T<sub>2</sub>-Relaxation dar.

Im Falle der Relaxation durch Feldinhomogenitäten findet keine Entropiezunahme statt. Das zeigt sich dadurch, dass mit Hilfe des Spin-Echo-NMR Experiments nach E. L. Hahn <sup>4.1</sup> die Spindephasierung durch Inhomogenitäten rückgängig gemacht werden kann. Es handelt sich damit um keinen echten Relaxationsvorgang.

Ähnlich wie zur Beschreibung der T<sub>1</sub>-Relalxation nutzt man bei der Spin-Spin-Relaxation einen Zeitwert zur Beschreibung. Sie wird als Relaxationszeit T<sub>2</sub><sup>\*</sup> bezeichnet und setzt sich aus den beiden oben beschriebenen Relaxationsvorgängen zusammen:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2^{\text{entrop}}} + \frac{1}{T_2^{\text{inhom}}} \quad \text{mit} \quad \frac{1}{T_2^{\text{inhom}}} = \frac{\gamma \Delta B_0}{2} \quad .$$
 (4.6)

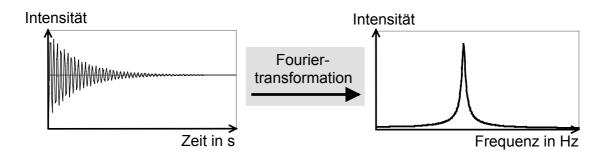
Zur Beschreibung der Feldinhomogenität wird die Größe  $\Delta B_0$  verwendet.

### 4.1.5 Das Frequenzspektrum

Mit der Messung der Larmorfrequenzen erhält man den Kurvenverlauf der Magnetisierung der Probe in Abhängigkeit von der Zeit. Die resultierende Magnetisierung in der x/y-Ebene, welche aufgrund der T<sub>2</sub>\*-Relaxation langsam mit der Zeit abnimmt, wird in Form einer Signalzerfallkurve I(t) (Free Induction Decay, kurz: FID) aufgenommen. Dieser FID bietet sämtliche Informationen über die beteiligten Larmor-frequenzen der Kernspins. Zur Analyse wird die Fouriertransformation durchgeführt:

$$I'(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} I(t) \cdot e^{-i \cdot t \cdot \omega} dt \quad . \tag{4.7}$$

Die Transformation errechnet aus der Zeitdomäne I(t) die zugehörige Frequenzdomäne I'( $\omega$ ). Abbildung 4.4 zeigt exemplarisch einen FID und die nach der Fouriertranformation resultierende Frequenzenverteilung in Form einer Lorentzkurve, die sich ergibt, wenn nur eine Larmorfrequenz detektiert wurde. Die hier im FID auftretende Dämpfung der Kurve entstand durch die T<sub>2</sub>\*-Relaxation, bzw. durch den Verlust an Magnetisierung in der x/y-Ebene. Die Halbwertsbreite der Lorentzkurve spiegelt dabei diese Dämpfung wider. Je stärker der Abfall ist, desto größer wird



**Abb. 4.4:** Darstellung eines FIDs (links) und dessen fouriertransformierten Frequenzspektrums (rechts).

die Halbwertsbreite. So wie die  $T_2^*$ -Zeit die Dämpfung des FID beschreibt, findet sie sich in der Halbwertsbreite  $b_{1/2}$  dieser Kurve wieder:

$$b_{1/2} = \frac{2}{\pi T_2^*} \quad . \tag{4.8}$$

### 4.2 Pulsed Field Gradient NMR

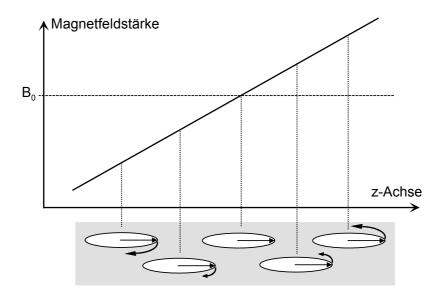
Zur Bestimmung von Diffusionskoeffizienten benötigt man Informationen über die Bewegung von Molekülen. Das Messprinzip des hier vorgestellten *Pulsed Field Gradient* (PFG) NMR Experiments erfasst räumliche Molekülverschiebungen im Probenmedium während der Diffusionszeit Δ. Durch diese Bewegungen werden FID-Signalverluste erzeugt, die die Berechnung des Diffusionskoeffizienten ermöglichen. Zur Bestimmung der Molekülposition zu Beginn und am Ende der Diffusionszeit werden dazu gepulste Feldgradienten eingesetzt. Zu dem theoretischen Hintergrund sind zahlreiche Publikationen erschienen, die nachfolgende Abhandlung basiert auf einigen ausgewählten Artikeln <sup>4.3, 4.4</sup>.

Der gepulste Feldgradient erzeugt parallel zur z- bzw. B<sub>0</sub>-Achse eine definierte Feldinhomogenität. Das Magnetfeld wird dabei parallel zu dieser Achse linear stärker bzw. schwächer, wobei g die Steigung bzw. die Gradientenstärke des

Feldes ist (siehe Abbildung 4.5, oben). Die Kernspins erfahren folglich je nach ihrer Position zur z-Achse ein unterschiedliches Magnetfeld  $\Delta B(z)$ . Dementsprechend wird die Larmorfrequenz der Spins entlang der  $B_0$ -Achse variiert:

$$\omega(z) = -\gamma \left[ B_0 + \Delta B(z) \right] \quad \text{mit} \quad \Delta B(z) = g \cdot z \quad . \tag{4.9}$$

Wird also der Feldgradient eingeschaltet und wirkt auf die Kernspins der Probe ein, so rotieren diese nicht mehr mit derselben Larmorfrequenz wie im B<sub>0</sub>-Feld, sondern mit einer Frequenz, die sich aus der ursprünglichen Larmorfrequenz und einem Anteil für die Feldinhomogenität zusammensetzt. In Abbildung 4.5 wird die Wirkung des Feldgradienten auf die Larmorfrequenzen der Spins dargestellt. Nach dem Abschalten des Gradienten rotieren sie wieder mit ihrer Larmorfrequenz. Die zwischenzeitliche Frequenzänderung hat jedoch das ganze Spinsystem verändert. Chemisch äquivalente Kernspins in Molekülen, welche sich in unterschiedlicher Position parallel zur z-Achse befinden, rotieren nun nicht mehr gebündelt, sondern aufgefächert in der x/y-Ebene.



**Abb. 4.5:** Darstellung der Wirkung des Feldgradienten auf die Kernspins: Durch die Zu- bzw. Abnahme der Magnetfeldstärke steigt bzw. sinkt die Rotationsfrequenz der Kernspins. Im rotierenden Koordinatensystem laufen demnach die Kernspins in der x/y-Ebene auseinander (verdeutlicht durch die Umlaufpfeile).

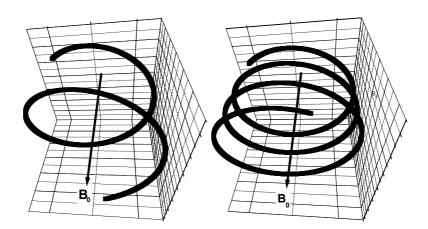
Die Zeitdauer, in welcher der Gradientenpuls wirkt, wird mit der Größe  $\delta$  beschrieben. Der Phasenwinkel  $\phi^i$  eines Kernspins i, der in der Zeit  $\delta$  durch den Gradientenpuls erzeugt wird, errechnet sich nach:

$$\varphi^{(i)} = \int_0^\delta \omega^{(i)}(z) - \omega_0 \, dt \qquad \text{mit } \omega_0 = \gamma \cdot B_0 \,. \tag{4.10}$$

Setzt man nun Gleichung 4.9 ein und integriert, so erhält man:

$$\varphi^{(i)} = \gamma \cdot \delta \cdot \mathbf{g} \cdot \mathbf{z}^{(i)} \quad . \tag{4.11}$$

Man erkennt, dass der Phasenwinkel  $\phi$  von der jeweiligen Spinposition parallel zur z-Achse und dem Produkt aus  $\gamma$ - $\delta$ -g abhängig ist. Dieses Produkt kann man als die Gradientenwirkung bezeichnen. Je nach z-Position oder Gradientenwirkung werden auch Phasenwinkel von über 360° bewirkt. Abbildung 4.6 beschreibt die Wirkung zweier unterschiedlich starker Gradienten auf den Phasenwinkel, welche entlang der B<sub>0</sub>-Achse in den Kernspins erzeugt wird.



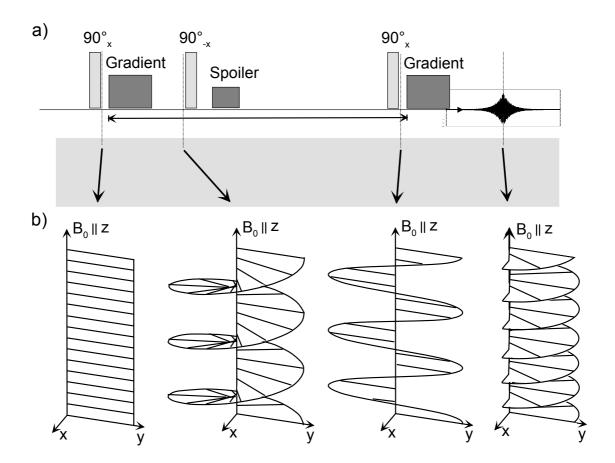
**Abb. 4.6:** Darstellung der Wirkung des Gradienten auf die Phase eines Kerns in Abhängigkeit seiner Position relativ zur B<sub>0</sub>-Achse: links: schwacher Gradient und rechts: starker Gradient.

Zur Beobachtung von Bewegungen bzw. der Messung von Diffusionskoeffizienten wird im PFG-Experiment eine Serie von verschieden starken Gradientenpulsen verwendet. Anschließend werden die FID- bzw. Echointensitäten der Serie gemessen und ausgewertet. Dazu mehr im Kapitel 4.2.1.

Die Messung von Diffusionskoeffizienten erfolgt zumeist wahlweise mit zwei experimentellen Pulsfolgen. Das *Pulsed Field Gradient Spin Echo* Experiment (PFG-SE) ermöglicht die Messung von sehr kurzen Diffusionszeiten im einstelligen Millisekundenbereich. Für die Messung längerer Diffusionszeiten ist dies jedoch dann ungeeignet, wenn die Kernspins der Moleküle kurze T<sub>2</sub>-Relaxationszeiten zeigen. In diesem Fall verwendet man häufiger das *Pulsed Field Gradient Stimulated Echo* Experiment (PFG-STE), welches den T<sub>2</sub>-Relaxationsmechanismus während der Diffusionszeit ausschaltet.

## 4.2.1 Das Pulsed Field Gradient Stimulated Echo Experiment (PFG-STE)

Die PFG-STE Pulsfolge verhindert die T<sub>2</sub>-Relaxation während der Diffusionszeit durch die Verwendung zweier 90° RF-Pulse (siehe Abbildung 4.7), von den einer kurz nach dem ersten und der andere kurz vor dem zweiten Gradientenpuls gesetzt



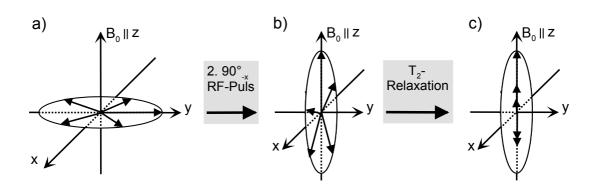
**Abb. 4.7:** Aufbau und Wirkung der PFG-STE Pulsfolge: a) Schema der Pulsfolge und des ECHO-FID, b) Wirkung der unterschiedlichen Pulse auf ein Kernspinsystem ohne Diffusion.

wird. E. L. Hahn nannte das entstehende Echo "stimuliertes Echo", wobei die Entwicklung der PFG-STE Pulsfolge auf seinen Arbeiten beruhte <sup>4.5</sup>.

In der PFG-STE Pulsfolge erfolgt zuerst ein 90° RF-Puls, der alle Kernspins im System in die x/y-Ebene dreht (siehe Abbildung 4.7 b, linkes Bild). Anschließend dephasiert der erste Gradientenpuls die Kernspins je nach ihrer Position parallel zur z-Achse. Dabei entsteht die helikale Anordnung der Spinvektoren, welche schon in Abbildung 4.6 dargestellt wurde.

Der zweite 90° RF-Puls dreht die Kernspins zurück um die x-Achse und besitzt damit die entgegengesetzte Wirkung des ersten Pulses. In Abbildung 4.8 wird gezeigt, wie dieser Puls die Kernspins aus der x/y-Ebene in die x/z-Ebene kippt. Im Prinzip wird die x/y-Ebene durch den 90° RF-Puls auf die x/z-Ebene projiziert (in der Abbildung 4.8,  $a \rightarrow b$ ). Anschließend werden in der Zeit bis zum nächsten 90° RF-Puls die x-und y-Komponenten jedes Kernspinvektors durch  $T_2$ -Relaxation abgebaut (in der Abbildung 4.8,  $b \rightarrow c$ ). Dem hingegen erfolgt kein Magnetisierungsverlust in z-Richtung, weil der dazugehörige  $T_1$ -Relaxationsprozess für einen signifikanten Magnetisierungsabbau meistens zu lange dauert ( $T_1 >> \Delta$ ). Vor dem nächsten RF-Puls verbleiben nur noch die Magnetisierungsanteile auf der z-Achse.

Im Endeffekt hat dieser Vorgang bei jenen Kernspins, die den Phasenwinkel 0° besaßen, eine maximale Ausrichtung in +z-Richtung belassen, bei Spins mit einem Winkel von z.B. 45° den Vektor deutlich verkürzt und bei Spins mit 180° Phasenwinkel eine maximale Ausrichtung in Richtung der -z-Achse bewirkt (in der Abbildung Bild c). Man kann diesen gesamten Vorgang, vom zweiten bis zum dritten 90° RF-Puls, als eine Ortskodierungstransformation von einer Phasen- in eine Vektorlängeninformation bezeichnen.

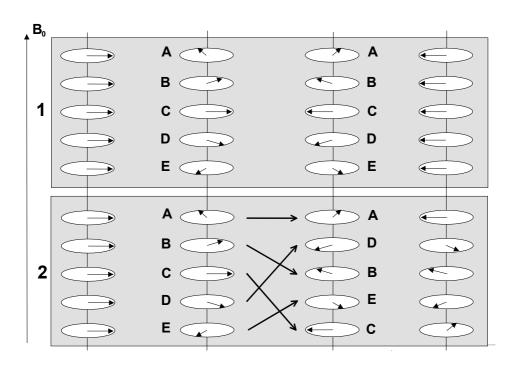


**Abb. 4.8:** Darstellung der Wirkung des zweiten 90° RF-Pulses und der anschließenden Relaxation auf die Kernspins.

Die Transformation wird ebenfalls deutlich, wenn der dritte 90° RF-Puls die Kernspins zurück in die x/y-Ebene dreht. Bei dieser Drehung werden die verbliebenen Spinvektoren aus der z-Achse vollständig auf die y-Achse gedreht (siehe Abbildung 4.7 b, zweites Bild von rechts), die Komponenten in x- und z-Richtung sind nicht mehr vorhanden. Somit liegen die Kernspins nach diesem dritten RF-Puls in der y/z-Ebene gestaffelt als sinoide Kurve vor, die die Ortsinformation des ersten Gradientenpulses in ihrer Amplitude enthält.

Abschließend dephasiert der zweite Gradientenpuls die Kernspins je nach ihrer Position parallel zur z-Achse. Da im Schaubild 4.7 eine Bewegung der Kernspins ausgeschlossen wurde, werden alle Spinvektoren wieder in Richtung der +y-Achse zurückgedreht. Der Verlust an x- und y-Komponenten nach dem zweiten RF-Puls zeigt sich jetzt darin, dass nicht alle Kernspins wieder in der y-Achse gebündelt werden (siehe Abbildung 4.7, rechtes Bild).

In der Pulsfolge wird zusätzlich noch ein *Spoiler*-Gradientenpuls eingesetzt. Er unterstützt die Auslöschung von x- und y-Komponenten der Spinvektoren, falls die T<sub>2</sub>-Relaxation keine vollständige Eliminierung während der Diffusionszeit erreichen kann. Die Wirkung von Diffusionsbewegungen in einem PFG-Experiment soll in Abbildung 4.9 an einem System unbewegter Kernspins im Vergleich zu einem System mit diffundierenden Spins verglichen werden. Zur Vereinfachung wird hier der Verlust an x- und y-Komponenten während des PFG-STE Experiments nicht berücksichtigt.



**Abb. 4.9:** Beschreibung von Diffusion im PFG-Experiment: System 1: Stationäre Kernspins, System 2: Diffundierende Kernspins.

In beiden Systemen erzeugt zunächst der erste Gradientenpuls die Ortskoodierung. Folgt nun in System 1 der zweite Gradientenpuls, so werden die Spins auf der negativen Seite der y-Achse gebündelt. Demnach hat der zweite Gradientenpuls nach dem Spiegelpuls die umgekehrte Wirkung des ersten Gradientenpulses.

In System 2 findet dagegen zwischen den beiden Gradientenpulsen eine Diffusionsbewegung der Spins statt. Anhand der Bezifferung in der Abbildung sind ihre Wege nachzuvollziehen. Der abschließende Gradient vermag nun nicht mehr die Phasen der Spins so zu verändern, dass alle wieder auf y-Achse gebündelt werden. Je weiter sie sich im Verlauf der Diffusion bewegt haben, desto größer ist die zurückbleibende Phasendifferenz zwischen den Spins. Zur Berechnung des Winkels dieser Phasendifferenz setzt man Gleichung 4.11 in Gleichung 4.10 ein, integriert über die Orte  $z_1$  (Startposition) und  $z_2$  (Endposition) und erhält:

$$\varphi^{(i)} = \gamma \cdot \delta \cdot g \cdot z_2^{(i)} - \gamma \cdot \delta \cdot g \cdot z_1^{(i)} = \gamma \cdot \delta \cdot g \cdot \Delta z^{(i)} \quad \text{mit } \Delta z^{(i)} = z_2^{(i)} - z_1^{(i)} . \tag{4.12}$$

Man kann hier erkennen, dass mit einer stärkeren Gradientenwirkung  $\gamma \cdot \delta \cdot g$  eine höhere Ortsauflösung erreicht wird, weil der Phasenwinkel immer empfindlicher gegenüber der Ortsverschiebung  $\Delta z$  wird. Jede Vergrößerung des Phasenwinkels bedeutet eine weitere Abnahme der Echointensität des FIDs. Auf diese Weise können Diffusionsbewegungen mit Hilfe der PFG-Technik beobachtet werden.

#### 4.2.2 Freie Diffusion in der PFG-Technik

Zur Bestimmung von Diffusionskoeffizienten wird eine Folge von PFG-Experimenten mit linear ansteigender Gradientenstärke durchgeführt. Wie wir gleich sehen werden, würden auch zwei Experimente, eines mit und eines ohne Gradient ausreichen, um den Diffusionskoeffizienten einer freien Diffusion zu bestimmen. Jedoch erhöht die Messung mit einer Gradientenserie die Genauigkeit des gemessenen Koeffizienten.

Die Herleitung der Auswertegleichung des Echosignalzerfalls einer Gradientenserie kann auf unterschiedliche Weisen erfolgen <sup>4.6-4.8</sup>, hier wird eine kurze Form der Herleitung dargestellt <sup>4.3</sup>.

Im Experiment wird die Magnetisierung in x-Richtung gemessen. Die Magnetisierung  $M_x$  setzt sich dabei aus der Summe der Magnetisierungen der Einzelspins  $M_x^{(i)}$  zusammen:

$$M_{x} = \sum_{i} M_{x}^{(i)} \propto \sum_{i} \cos(\varphi^{(i)}). \tag{4.13}$$

Wie dargestellt, ist die Magnetisierung  $M_x$  proportional zur Projektion des rotierenden Phasenwinkels  $\phi^{(i)}$  auf die x-Achse. Zur Berechnung der Abnahme der Echointensität in Abhängigkeit von der Brownschen Bewegung der Kernspins (und der damit verbundenen Dephasierung in der x/y-Ebene) werden nun zwei weitere Größen eingeführt. Mit  $p(z_1)dz_1$  wird die Wahrscheinlichkeit beschrieben, dass ein Molekül zu Beginn des Experiments eine Position zwischen den Koordinaten  $z_1$  und  $z_1+dz_1$  einnimmt. Nach der Diffusionszeit  $\Delta$  findet man dasselbe Molekül an einem Ort zwischen  $z_2$  und  $z_2+dz_2$  mit der Wahrscheinlichkeit  $P(z_2,z_1,\Delta)dz_2$  wieder. Die Echointensität  $\Psi$  als Funktion der Gradientenwirkung  $\gamma\cdot\delta\cdot g$  und der Diffusionszeit  $\Delta$  ist somit durch eine Wahrscheinlichkeitsrechnung zu ermitteln:

$$\Psi(\Delta, \delta \cdot g) = \frac{M_x}{M_0} = \iint \cos[\gamma \delta g(z_2 - z_1)] \cdot p(z_1) \cdot P(z_2, z_1, \Delta) dz_1 dz_2 . \quad (4.14)$$

Mit  $M_0$  wird hier die maximale Magnetisierung bezeichnet, die man im PFG-STE Experiment nach dem ersten 90°-Puls im FID beobachten würde (siehe Abbildung 4.7). Für eine Selbstdiffusion in einer homogenen und unbegrenzten Umgebung ist p(z1) konstant.

Der Faktor  $P(z_2,z_1,\Delta)$  wird auch als Propagator bezeichnet. Er beschreibt die Ausbreitungswahrscheinlichkeit eines Spins vom Ursprungsort. Wie in Kapitel 4 beschrieben, folgt diese Ausbreitung statistischen Gesetzen und kann für eine freie Diffusion durch eine Gausskurve beschrieben werden. Ähnlich zur Herleitung der Gausskurve in dem obengenannten Kapitel, lässt sich auch eine analoge Gleichung unter Einbeziehung des Diffusionskoeffizienten herleiten (siehe Gleichung 3.13):

$$P(z_2, z_1, \Delta) = \frac{1}{\sqrt{4\pi D \Delta}} e^{\frac{-(z_2 - z_1)^2}{4D\Delta}} . \tag{4.15}$$

Nun sind alle Faktoren in Gleichung 4.13 ausreichend beschrieben und die Integration liefert:

$$\Psi(\Delta, \delta \cdot g) = \frac{M_x}{M_0} = e^{-\gamma^2 \cdot \delta^2 \cdot g^2 \cdot D \cdot \Delta} \quad . \tag{4.16}$$

Diese Gleichung beschreibt den Verlauf der Echointensität als exponentiellen Zerfall. Sie ist nur gültig für die Bedingung, dass  $\Delta >> \delta$  ist, was man auch als das *short gradient pulse limit* (SGP *limit*) bezeichnet. Für den Fall, dass  $\Delta \geq \delta$  ist, gilt:

$$\Psi(\Delta, \delta \cdot \mathbf{g}) = \frac{M_x}{M_0} = e^{-\gamma^2 \cdot \delta^2 \cdot g^2 \cdot D \cdot \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right)} . \tag{4.17}$$

Der Korrekturwert  $\delta/3$  steht für die Bewegung der Moleküle während des Gradienten. Während des PFG-STE Experiments treten auch Relaxationen im Spinsystem auf, welche den Echozerfall verstärken. Die  $T_2^*$ -Relaxation findet in der Zeit zwischen dem ersten und dem zweiten und nach dem letzten 90° RF-Puls für jeweils einen Zeitraum von  $\tau_2$  auf. Messbar ist allerdings nur die  $T_2^{\text{entrop}}$ , weil der Anteil  $T_2^{\text{inhom}}$  durch das Pulsexperiment herausgefiltert wird <sup>4.1</sup>. Durch die zwischenzeitliche Orientierung der Kernspins zwischen dem zweiten und dritten 90° RF-Puls parallel zur z-Achse, tritt außerdem noch die  $T_1$ -Relaxation auf, hier für einen Zeitraum  $\tau_1$  beschrieben. Gleichung 4.17 wird deshalb mit zwei Termen für die Relaxationsarten ergänzt <sup>4.1, 4.4</sup>:

$$\Psi(\Delta, \delta \cdot g) = \frac{M_{\perp}}{M_0} = e^{-\frac{2\tau_2}{T_2^{entrop}} - \frac{\tau_1}{T_1} - \gamma^2 \cdot \delta^2 \cdot g^2 \cdot D\left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right)} \quad . \tag{4.18}$$

Zu einem Zeitpunkt  $\tau_2$  nach dem letzten RF-Puls kann man in beiden Experimenten das Maximum des Echo-FIDs beobachten.

Zur Auswertung eines Diffusionskoeffizienten sind mindestens zwei Messungen nötig, um den  $M_0$ -Wert und einen  $M_x$ -Wert zu ermitteln. Werden mehrere  $M_x$ -Werte gemessen, so kann eine Kurvenanpassung zwischen Messwerten und Auswertegleichung (4.17 bzw. 4.18) erfolgen, die zur einer genaueren Anpassung und zu vertrauenswürdigeren Ergebnissen führt.

#### 4.2.3 Gehinderte Diffusion in der PFG-Technik

Die Bestimmung von Porengrößen mittels der PFG-NMR wird schon seit den frühen 80er Jahren praktiziert. Häufig wurde die Wasserdiffusion in Wasser-in-Öl Emulsionen wie Käse <sup>4.9</sup> und Magarine <sup>4.10</sup> oder in Emulsionen aus Wasser/Benzol und Wasser/Xylol <sup>4.11</sup> oder Wasser/Paraffinöl <sup>4.12</sup> gemessen. Auch Öl-in-Wasser Emulsionen wurden untersucht, wobei hier die Diffusion der Ölmoleküle wie n-Hexadekan und n-Oktan gemessen wurde <sup>4.12, 4.13</sup>.

In den Ergebnissen dieser Studien wird von Wasser bzw. Öl in Poren mit Durchmessern von mindestens 0,8 bis 100 µm berichtet, wobei allgemein eine sphärische Form der Poren angenommen wird.

Neben Emulsionen und Dispersionen wird auch die Diffusion von beweglichen Molekülen in Gelen <sup>4.14</sup> und Polymeren oder auch in organischen Materialen wie Erdnüssen <sup>4.15</sup> mit der PFG-Technik untersucht, um strukturelle Informationen zu gewinnen.

Zur Auswertung der gehinderten Diffusion werden im Wesentlichen drei unterschiedliche Methoden genutzt:

- a) Anpassung an theoretische Gleichungen für Signalzerfälle bei Bewegung in räumlich begrenzten Umgebungen.
- b) Q-space imaging: Umwandeln der experimentellen Daten in den Q-space.
- c) Computersimulation der Signalzerfälle bei gehinderter Bewegung.

Die ersten theoretischen Ansätze zur Diffusion von Molekülen in sphärischen Körpern machten J.S. Murday, R. M. Cotts <sup>4.16</sup> und C. H. Neuman <sup>4.17</sup>. Ihre Theorie wird auch als die Methode der *Gaussian Phase-Distribution* (GPD) *approximation* bezeichnet.

Die Herleitung beginnt mit der Idee, dass man die Phasen von Kernspins akkumuliert. Für einen Kernspin i ist dabei die Phase  $\phi^{(i)}$  nach der Pulsfolge (siehe Abbildung 4.7) in der x/y-Ebene gegeben durch:

$$\varphi^{(i)}\left(\delta,g,\Delta\right) = \gamma g \left[ \int_{t_1}^{t_1+\delta} z^{(i)}(t) dt - \int_{t_1+\Delta}^{t_1+\Delta+\delta} z^{(i)}(t) dt \right] . \tag{4.19}$$

 $z^{(i)}(t)$  ist hier der Phasenwert eines Kernspins, welcher je nach Position entlang der z-Achse durch den Gradienten erzeugt wird (siehe Abbildung 4.6). Die beiden Integrale erfassen jeweils die Bewegung des Kernspins während der Zeiten  $t_1$  bis  $t_1+\delta$  und  $t_1+\delta$  bis  $t_1+\delta+\delta$ , also die Bewegung der Kernspins während der Einwirkung des ersten und des zweiten Gradienten in der Zeit  $\delta$ . Durch die Differenzbildung wird zusätzlich die Bewegung des Spins während der Diffusionszeit  $\delta$  mit einbezogen. Ansonsten ist die Gleichung identisch mit Gleichung 4.12, bei der aber die Bewegung der Kernspins während der Einwirkung der Gradienten nicht berücksichtigt wird. Um nun die Echozerfallskurve zu ermitteln, wird Gleichung 4.19 um einen Term  $P(\phi, \delta)$  erweitert, der beschreibt, wie wahrscheinlich es ist, dass ein Kernspin eine solche Phase  $\phi$  nach der Diffusionszeit  $\delta$  auch besitzen kann. Da die Phase hier von der Beweglichkeit des Teilchens abhängt, ist diese Funktion mit der Gaussverteilung identisch. Diese Verteilung belegt, dass weite Bewegungen bei einem  $\epsilon$  random walk zunehmend unwahrscheinlich werden, kurze Distanzen am häufigsten auftreten. Die komplette Modifikation von Gleichung 4.19 führt so zu:

$$\Psi(\delta, \mathbf{g}, \Delta) = \int_{-\infty}^{+\infty} P(\phi, \Delta) \cdot \cos(\phi) \ d\phi \quad . \tag{4.20}$$

Weiterhin wurde hier durch den Kosinus die Projektion der Phasen auf eine Achse durchgeführt und durch die Integration von  $-\infty$  bis  $+\infty$  über alle möglichen Phasen sämtliche Bewegungen erfasst. Die Annahme, dass die Verteilung aller Phasen der Gesetzmäßigkeit einer Gausskurve unterliegt, gab der Theorie den Namen. Die Lösung führt zu  $^{4.18}$ :

$$\Psi(\delta, \mathbf{g}, \Delta) = e^{-\overline{\varphi^2}/2}. \tag{4.21}$$

Mit  $\overline{\phi^2}$  ist das mittlere Quadrat der Phasen gemeint. Die weiteren Schritte, welche die sphärische Geometrie bei der Bewegung des Spins berücksichtigen, führen über das Verwenden von Besselfunktionen zum Ziel <sup>4.16</sup>:

$$In \left[ \Psi \left( \delta, g, \Delta \right) \right] = - \frac{2 \gamma^2 g^2}{D} \sum_{m=1}^{\infty} \frac{\alpha_m^{-4}}{\alpha_m^2 R_P^2 - 2} \cdot \left\{ 2 \delta - \frac{2 + e^{-\alpha_m^2 D (\Delta - \delta)} - 2 e^{-\alpha_m^2 D \delta} - 2 e^{-\alpha_m^2 D \Delta} + e^{-\alpha_m^2 D (\Delta + \delta)}}{\alpha_m^2 D} \right\}. \tag{4.22}$$

 $\alpha_m$  ist die m-te Wurzel der Besselfunktion  $\alpha_m \cdot R_P \cdot J'_{3/2} \cdot (\alpha_m R_P)^{-1}/_2 \cdot J_{3/2} \cdot (\alpha_m \cdot R_P) = 0$  und  $R_P$  der Radius der Pore. Die Lösung dieser Gleichung ist kompliziert und sprengt den Rahmen dieser Arbeit. Da Gleichung 4.22 jedoch ein wichtiges Bindeglied auf dem Weg zu Lösung ist, wird sie an dieser Stelle genannt. Unter der Annahme das  $D \cdot \Delta / R^2 >> 1$  und  $D\delta << 1$  sind, lässt sich die Gleichung vereinfachen zu:

$$\Psi(\delta, \mathbf{g}, \Delta) = e^{-\frac{1}{5}R_{p}^{2} \cdot \gamma^{2} \cdot \delta^{2} \cdot \mathbf{g}^{2}} . \tag{4.23}$$

Gemäß den Annahmen beschreibt diese Gleichung den Echozerfall für in kleine Tröpfchen eingesperrte Moleküle exakt.

Ein weiterer theoretischer Ansatz zur Interpretation von Echozerfallskurven von Molekülbewegungen in sphärisch gehinderten Umgebungen  $^{4.18,\ 4.19}$  wird mit die Theorie des *short gradient pulse limit* (SGP *limit*) bezeichnet. Die Herleitung der Auswertegleichung beginnt mit der wichtigen Annahme, dass im Experiment die Gradientendauer  $\delta$  wesentlich kleiner als die Diffusionszeit  $\Delta$  ist. Somit werden Molekülbewegungen in der Zeitspanne des anliegenden Gradientenfeldes gegenüber den Bewegungen in der Zeit zwischen den beiden Gradienten vernachlässigt.

Zu Beginn wird Gleichung 4.14 in ein Polarkoordinatensystem übersetzt und der cos-Term gemäß  $cos(a\cdot x)+i\cdot sin(a\cdot x)=exp(i\cdot a\cdot x)$  umgeformt:

$$\Psi \left( \delta, g, \Delta \right) = \iint e^{\left[ i \gamma g \delta \cdot \left( r_{0} - r \right) \right]} \cdot \rho \left( r_{0} \right) \cdot P \left( r_{0} \middle| r, \Delta \right) dr \ dr_{0} \ . \tag{4.24} \label{eq:4.24}$$

 $\rho(r_0)$  beschreibt die Wahrscheinlichkeit, dass sich ein Molekül zwischen den Positionen  $r_0$  und  $r_0$ +d $r_0$  befindet,  $P(r_0 \mid r, \Delta)$  die Wahrscheinlichkeit, dass das selbe Molekül nach einer Diffusionszeit von  $\Delta$  zu einer Position zwischen r und r+dr diffundiert ist. Der komplexe Exponentialterm berechnet die Phasenverschiebung zur Bewegung. Der Propagatorterm  $P(r_0 \mid r, \Delta)$  führt, wie schon zur Gleichung 4.14 erwähnt, die sphärische Geometrie in die Gleichung ein r-17. Die Herleitung des Propagators ist aufwändig und kompliziert. Setzt man dessen Lösung in Gleichung 4.24 ein, so erhält man für lange Diffusionszeiten abschließend:

$$\Psi(\delta, g) = \frac{9 \cdot \left[ \gamma \cdot \delta \cdot g \cdot R_{P} \cos(\gamma \cdot \delta \cdot g \cdot R_{P}) - \sin(\gamma \cdot \delta \cdot g \cdot R_{P}) \right]^{2}}{(\gamma \cdot \delta \cdot g \cdot R_{P})^{6}} \quad . \tag{4.25}$$

Mit dieser Gleichung kann nun der Echozerfall in einer Pore mit dem Radius R<sub>P</sub> berechnet und an die experimentellen Daten angepasst werden.

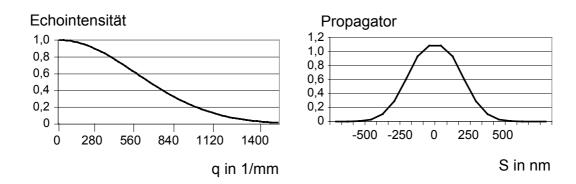
Das *Q-space imaging* <sup>4.8, 4.20</sup> bietet gegenüber der Nutzung der theoretischen Gleichungen einen großen Vorteil, da es aus den experimentellen Daten relativ einfach das Diffusionsverhalten herleitet. Es kann gleichzeitig verschiedenste Diffusionsprozesse sichtbar machen.

Das *imaging* ist im Prinzip die simple Umwandlung der Echozerfallskurve  $\Psi$  mittels der inversen Fouriertransformation in eine Propagatorkurve P:

$$P(S,\Delta) = \int_{-\infty}^{+\infty} \Psi(q,\Delta) \cdot e^{i\cdot 2\cdot \pi \cdot S \cdot q} dq \qquad \text{mit} \qquad q = \frac{\gamma \cdot \delta \cdot g}{2\pi} \quad . \tag{4.26}$$

Mit S wird hier die Verschiebung der Moleküle vom Start- zum Endpunkt der Bewegung beschrieben. Die Größe q wird in der Beschreibung von Echozerfallskurven in moderneren Artikeln häufig verwendet, weil die Auftragung der Echozerfälle allein gegen  $\delta$  bzw. g in der Literatur eventuell zu Problemen beim Vergleich von Messdaten führt. Trägt man gegen q auf, so sind die Daten allgemein interpretierbar, weil alle variablen Größen berücksichtigt werden.

In Abbildung 4.10 zeigt das linke Schaubild die Echozerfallskurve von Molekülen in einer Sphäre mit einem Radius von 500 nm. Diese Kurve wurde mit Hilfe der Gleichung 4.23 berechnet. Führt man anschließend die inverse Fouriertransformation der Daten durch, so erhält man die rechts daneben dargestellte Propagatorkurve. Diese zeigt deutlich, dass die Bewegung der Teilchen in einem Raum von +/- 500 nm eingeschränkt ist, was dem Sphärenradius entspricht.



**Abb. 4.10:** Q-Space Imaging: a) Echozerfallskurve einer Diffusionsbewegung in einer Sphäre mit einem Radius von 500 nm, b) Propagator der gehinderten Diffusion, berechnet aus der Kurve a.

Als letztes soll noch kurz auf die Verwendung von Computersimulatoren eingegangen werden. Sie werden zumeist genutzt, um theoretische Gleichungen (siehe oben) für Diffusionsbewegungen in verschiedensten räumlichen Umgebungen zu überprüfen <sup>4.21-4.23</sup>. Am gebräuchlichsten ist dabei die Monte Carlo Methode, bei der durch die Erzeugung von Zufallszahlen einzelne Bewegungsschritte berechnet werden und sich durch ihre Aneinanderreihung der *random walk* generiert. Gelangen Teilchen bei dieser Bewegung an die räumlichen Grenzen, so werden dort die nächsten Schritte derart berechnet, dass die Teilchen den Raum nicht verlassen können. Schließlich liefert der Simulator für die Berechnung einer Echozerfallskurve die Startund Endposition jeder Teilchenbewegung. Bei einer genügend großen Anzahl an Teilchen lässt sich schließlich der Signalzerfall durch die Bewegung berechnen <sup>4.21</sup>:

$$\Psi(q, \Delta) = e^{i \cdot 2 \cdot \pi \cdot q \cdot Z(\Delta)} \quad \text{mit } Z(\Delta) = Position(t = \Delta) - Position(t = 0) \quad . \tag{4.27}$$

## Literatur:

- 4.1 **H. Friebolin**: "Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie" VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, (1988)
- 4.2 **S. Braun, H.-O. Kalinowski, S. Berger**: "150 and More Basic NMR Experiments", Wiley-VCH, Weinheim, (1998)
- 4.3 **J. Kärger, D.M. Ruthvew**: "Diffusion in Zeolithes" John Wiley & Sons, Inc. New York, (1992)
- 4.4 **C. J. Johnson**, Encyclopedia of nuclear magnetic resonance, 3, 1626-1644, John Wiley & Sons, Inc. New York, (1996)
- 4.5 **E. L. Hahn**, Phys. Rev. 80, 580-594, (1950)
- 4.6 **A. Abragam**: "The Principles of Nuclear Magnetism", Oxford University Press, London, (1961)
- 4.7 J. Kärger, H. Pfeiffer, W. Heink, Adv. Magn. Res. 12, 1988, 1
- 4.8 **P. T. Callaghan**: "Principles of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy", Oxford University Press, London 1991
- 4.9 **P.T. Callaghan, K.W. Jolley**, J. Colloid Interface Sci., 93, 2, 521-529, (1983)
- 4.10 **O. Södermann**, Progr. Colloid Polym. Sci., 106, 34-41, (1997)
- 4.11 **I. Lönnqvist, A. Khan, O. Södermann**, J. Colloid Interface Sci., 144, 2, 401-411, (1991)
- 4.12 **K. J. Packer, C. Rees**, J. Colloid Interface Sci., 40, 2, 206-218, (1972)
- 4.13 **X. Li, J. C. Cox, R.W. Flumerfelt**, AlChE Journal, 38, 10, 1671-1674, (1992)
- 4.14 **L. Griffiths, R. Horton, I. Parker, R.C. Rowe**, J. Colloid Interface Sci., 154, 1, 238-249, (1992)
- 4.15 **N. L. Zakhartchenko, V.D. Skirda, R.R. Valiullin**, Mag. Res. Img., 16, 583-586, (1998)
- 4.16 **J.S Murday, R. M. Cotts**, J. Chem. Phys., 48, 4938-4945, (1968)
- 4.17 **C. H. Neuman**, J. Chem. Phys., 60, 4508-4511, (1974)
- 4.18 **E. O. Stejskal**, J. Chem. Phys., 49, 1768, (1965)
- 4.19 **J. E. Tanner**, J. Chem. Phys., 49, 1768, (1968)
- 4.20 **T.-Q. Li, M.Häggkvist, L. Ödberg**, Langmuir, 13, 3570-3574, (1997)
- 4.21 P.T. Callaghan, A. Coy, T.P.J. Halpin, D. MacGowan, K.J. Packer, F.O. Zelaya, J. Chem. Phys., 97, 651-662, (1992)

- 4.22 **B. Balinov, B. Jönsson, P. Linse, O. Söderman**, J. Magn. Res., A 104, 17-25, (1993)
- 4.23 A. Duh, A. Mohorič, J. Stepišnik, J. Magn. Res. 148, 257-266, (2001)

## Kapitel 5

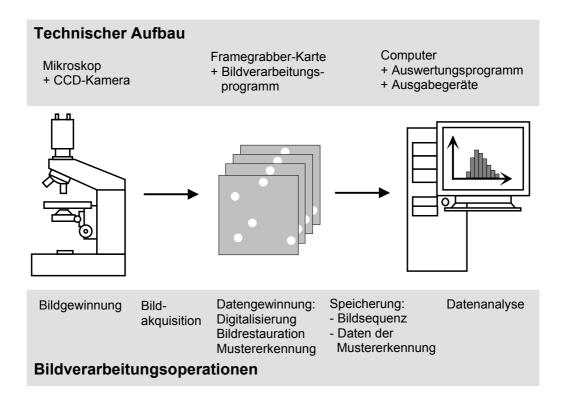
## Dynamic Nanosizing Microscopy

## 5.1 Einleitung

Die hier vorgestellte Methode ist ein neuer aber zugleich auch alter Weg zur Größenbestimmung von in Flüssigkeiten dispergierten Partikeln. Alt ist die grundsätzliche Idee, die auf A. Einsteins und seine Zeitgenossen zurückgeht: aus der Brownschen Bewegung von suspendierten Teilchen ihre Größe abzuleiten. Auch die ersten Messungen liegen beinahe ein Jahrhundert zurück. Diese Untersuchungen und einfachen Radienbestimmungen, für die die Wissenschaftler T. Svedberg und R. Zsigmondy getrennt Nobelpreise erhielten, bilden das theoretische und in Teilen auch praktische Fundament der Dynamic Nanosizing Microscopy (DNM). Neu an der Methode ist die Möglichkeit, nicht nur Einzelradien sondern auch Radienverteilungen zu messen. Dies geschieht dabei durch die individuelle optische Verfolgung einzelner Partikel (motion tracking), wodurch der Radius der einzelnen Partikel bestimmt wird. Durch dieses direkte Messverfahren setzt sich die DNM von allen anderen Lichtstreuungsmethoden zur Größenbestimmung ab. So verwenden z.B. die dynamischen wie auch die statischen Lichtstreuungsverfahren Korrelationsfunktionen, die aus der Lichtstreuung eines Partikelensembles Information über das Verhalten einzelner Partikel errechnen, was einer indirekten Beobachtung gleichkommt.

Die DNM-Methode besteht aus einem digitalen Bildverarbeitungssystem, das in seinem Aufbau in einigen wenigen Arbeitsgruppen zur Untersuchung von kolloidalen Systemen verwendet wird. Für einen Einblick zu diesem Thema sei hier auf mehrere Publikationen hingewiesen, in welchen ähnliche Systeme wie das oben beschriebene vorgestellt werden <sup>5.1-5.5</sup>. Untersucht wurden dabei zumeist dynamische Verhaltensänderungen in hochkonzentrierten Suspensionen oder Partikel-Wand-Wechselwirkungen.

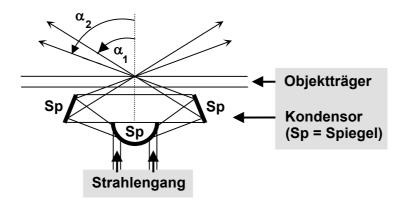
In Abbildung 5.1 wird der Aufbau der Methode dargestellt. Zentral zeigt die Skizze die drei technischen Elemente bestehend aus dem Durchlicht-Dunkelfeldmikroskop und der angeschlossenen CCD-Kamera, der *Framegrabber*-Karte sowie einem Computer zur Auswertung und Datenausgabe. Die Bilderzeugung wird im nachfolgenden Kapitel 5.2 erläutert. Die Verarbeitung der Bilddaten durch die CCD-Kamera und die *Framegrabber*-Karte erfolgt in Kapitel 5.3. Hier werden die einzelnen Bildverarbeitungsoperationen erläutert, zu denen die Digitalisierung der von der CCD-Kamera aufgenommenen Bilder, ihre Restauration bzw. Überarbeitung und abschließend die Erkennung der Partikelpositionen gehören. Nach der Speicherung der Bilder und Daten erfolgt die Datenanalyse mit Hilfe des Computers, beschrieben in Kapitel 5.4.



**Abb. 5.1:** Aufbau der Dynamic Nanosizing Microscopy Methode und deren Bildverarbeitungsoperationen.

# 5.2 Grundlagen der Durchlicht-Dunkelfeldmikroskopie zur Beobachtung der Brownschen Bewegung

Nachdem A. Einstein seine Veröffentlichung von 1905 <sup>5.6</sup> mit den folgenden Worten beendete: "Möge es bald einem Forscher gelingen, die hier aufgeworfene, für die Theorie der Wärme wichtige Frage zu entscheiden.", begannen zahlreiche Wissenschaftler mit der Überprüfung der Theorie. Eine zeitgenössische Zusammenfassung ihrer Arbeiten wurde damals von T. Svedberg erstellt <sup>5.7</sup>, zur Sicht aus der heutigen Perspektive sei auf aktuellere Publikationen verwiesen <sup>5.8, 5.9</sup>. Die technische Verwirklichung der schiefen Beleuchtung, die den Untersuchungen nur um wenige Jahre vorausging, bildet bis heute die Grundlage der Dunkelfeldmikroskopie. Damals erfanden H. Siedentopf und R. Zsigmondy den Spaltultrakondensor, der das Beleuchtungslicht senkrecht zur Beobachtungsrichtung auf die Probe einstrahlt <sup>5.10</sup>. Einige Jahrzehnte später wurde der Kardoidkondensor vorgestellt. Er beleuchtet das Objekt nicht wie der Spaltultrakondensor nur von einer Richtung sondern von allen Seiten hohlkegelförmig, was eine hellere Ausleuchtung ermöglicht. In Abbildung 5.2 wird der Strahlengang des Kardoidkondensors dargestellt.



**Abb. 5.2:** Aufbau und Strahlengang des Kardoiddunkelfeld-kondensors (aus  $^{5.11, 5.12}$ ) mit  $\alpha_1$  als Begrenzung der inneren und  $\alpha_2$  der äußeren Apertur.

Der Dunkelfeld-Effekt, der nach J. Tyndall als Tyndall-Effekt bezeichnet wird, lässt sich anhand eines einfachen Experiments erklären. In einem abgedunkelten Raum dringt durch ein Türschlüsselloch ein schmaler Lichtstrahl. Der Betrachter im Raum ist so positioniert, dass er den Lichtstrahl von der Seite vor einem dunklem Wandhintergrund betrachten kann. Bis jetzt kann er das Licht nicht wahrnehmen. Bläst er

aber ein wenig Zigarettenrauch in den Strahl, so leuchten die Rauchpartikel hell vor dem Wandhintergrund auf. Sie streuen das Licht in alle Raumrichtungen und werden dadurch für den Beobachter sichtbar.

Analog zu dem obigen Beispiel werden in der Dunkelfeldmikroskopie lichtstreuende Objekte vor einem dunklem Hintergrund abgebildet. Dies wurde einst genutzt, um photographische Langzeitbelichtungen zur Beobachtung von Teilchenbewegung einsetzen zu können. Die Dunkelfeldmikroskopie gehört deshalb zu den sogenannten Kontrastmethoden der Mikroskopie. Der Kontrast K wird durch die folgende Gleichung wiedergegeben <sup>5.12</sup>:

$$K = \frac{I_{\text{Umfeld}} - I_{\text{Objekt}}}{I_{\text{Umfeld}} + I_{\text{Objekt}}}$$
 (5.1)

I ist in dieser Gleichung die Lichtintensität, sie ist dem Quadrat der Amplitude der Lichtschwingung direkt proportional <sup>5.13</sup>. In der Dunkelfeldmikroskopie ist die Intensität des Umfeldes nahe null. Folglich ist der Kontrast im Dunkelfeld K = -1, weshalb sich die Objekte vor dem Bildhintergrund optimal unterscheiden. Das bedeutet weiterhin, dass die Teilchen sichtbar sind, solange die Intensität des von ihnen ausgehenden Lichts I<sub>Objekt</sub> ausreichend groß ist, um vom menschlichen Auge bzw. der beobachtenden Einheit (z. B. Photo- oder Fernsehkamera) wahrgenommen zu werden. Man bezeichnet diese Grenze der Sichtbarkeit als Unterschiedsschwelle <sup>5.12</sup>. Mit Hilfe der Dunkelfeldmikroskopie konnten sogar Partikel mit einer Größe von nur 4 nm sichtbar gemacht werden <sup>5.12</sup>.

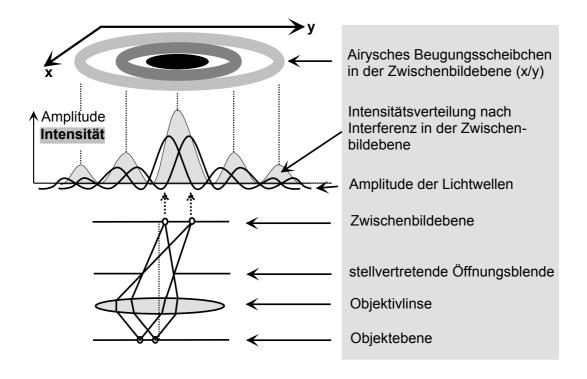
Die Unterscheidbarkeit zweier benachbarter Objekte in Abhängigkeit von ihrem Abstand wird durch das Auflösungsvermögen des Lichtmikroskops bedingt. Das Auflösungsvermögen erklärten G. B. Airy und E. Abbe auf unterschiedliche Weise anhand der Bildentstehung im Mikroskop <sup>5.12-5.15</sup>. Die Theorie von E. Abbe orientiert sich an der Beleuchtung und Abbildung periodischer Strukturen. Im hier vorgestellten Anwendungsbereich der DNM-Methode sind solche Strukturen nicht von Bedeutung. Insofern wird hier das Modell der Bildentstehung nach G. B. Airy erläutert, das sich mit nichtperiodischen Strukturen befasst.

#### 5.2.1 Die Bildentstehung nach G. B. Airy

Nach der Betrachtungsweise von G. B. Airy werden die Objekte in Selbstleuchter und Nichtselbstleuchter unterschieden. Airy zerlegt die Objekte zunächst in einzelne Punkte, wobei jeder Punkt in der Zwischenbildebene durch die Interferenz der von ihm ausgehenden kohärenten Lichtwellen ein Beugungsscheibchen erzeugt.

Das selbstleuchtende Objekt sendet zeitgleich von verschiedenen dieser Punkte inkohärente Kugelwellen aus. Diese können in der Zwischenbildebene nicht interferieren, so dass das Bild durch das Summieren der Intensitäten einzelner Beugungsfiguren entsteht.

Die Bildentstehung bei beleuchteten Objekten ist etwas komplizierter (Abbildung 5.3). Hier muss zunächst von einer punktförmigen Lichtquelle ausgegangen werden. Diese erzeugt eine kohärente Objektbeleuchtung, wenn alle Lichtwellen senkrecht auf das Objekt treffen. Anschließend gehen von den Punkten des Objekts zueinander kohärente Lichtwellen aus. Jeder Punkt erzeugt ein Beugungsscheibchen, das in der Zwischenbildebene bei der Überlagerung mit anderen Scheibchen interferiert.

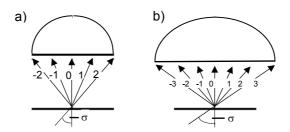


**Abb. 5.3:** Strahlengang und Bildentstehung eines Nichtselbstleuchters nach G. B. Airy <sup>5.15</sup>.

### 5.2.2 Das Auflösungsvermögen im Hell- und Dunkelfeld

Nachdem die Bildentstehung im Mikroskop erklärt wurde, kann nun dessen Auflösungsvermögen erläutert werden.

Für die Bildentstehung ist, wie G. B. Airy zeigte, die Interferenz mindestens zweier Beugungsmaxima eines Objektpunkts (bzw. einer periodischen Struktur) für die Bildentstehung erforderlich. Somit muss der Öffnungswinkel  $2 \cdot \sigma$  des Objektivs ausreichend groß sein, um den Einfall dieser Maxima zu ermöglichen (siehe Abbildung 5.4 a). Je mehr Beugungsmaxima in der Zwischenbildebene miteinander interferieren, desto höher wird die Auflösung der Struktur, weil durch die Interferenz einer größeren Anzahl von Beugungsmaxima die Beugungsscheibchen kleiner werden (siehe Abbildung 5.4 b).



**Abb. 5.4:** Abhängigkeit der Auflösung eines Objekts vom Öffnungswinkel  $\sigma$  des Objektivs: a) Objektiv mit kleinem Öffnungswinkel: Hier nur Eintritt des Haupt- und ersten Nebenmaximums, b) Objektiv mit größerem Öffnungswinkel: Eintritt weiterer Nebenmaxima möglich, wodurch die Auflösung höher wird.

Nach der Bildentstehungstheorie gibt es jedoch eine Auflösungsgrenze, bei deren Unterschreitung die Beugungsfiguren eng benachbarter Objektdetails nicht mehr klar getrennt werden. Für die Auflösung von feinstrukturierten Objekten wird der kleinste noch auflösbare Gitterabstand d bzw. der Abstand zweier Beugungsscheibchen durch die folgende Formel definiert <sup>5.12, 5.16</sup>:

$$d = \frac{\lambda}{A_{Ob} + A_{Bel}} \quad \text{mit} \quad A_{Ob} \ge A_{Bel} , \qquad (5.2)$$

mit  $\lambda$  für die Wellenlänge des Mikroskopierlichts,  $A_{Ob}$  als numerische Apertur des Objektivs und  $A_{Bel}$  als numerische Apertur des Kondensors. Die numerische Apertur

wird als Produkt aus dem Brechungsindex n des Mediums zwischen Objekt und Frontlinse des Objektivs (Luft bzw. Immersionsöl) und dem halben Öffnungswinkel  $\sigma$  definiert <sup>5.12</sup>:

$$A_{Ob} = n \cdot \sin(\sigma) \quad , \tag{5.3}$$

wobei diese Gleichung auch für A<sub>Bel</sub> gilt.

Aus der Praxis ist bekannt, daß für einen optimalen Bildkontrast in der Hellfeldbeleuchtung  $A_{Bel}$  etwa  $^2/_3$  von  $A_{Ob}$  betragen sollte. Damit ergibt sich für den kleinsten auflösbaren Gitterabstand bzw. den Abstand d zweier Beugungsscheibchen folgende Formel  $^{5.12}$ :

$$d = 0.6 \cdot \frac{\lambda}{A_{Ob}} \quad . \tag{5.4}$$

Wenn man nun für die mittlere Wellenlänge des sichtbaren Spektrums 555 nm und für die übliche Apertur eines hochauflösenden Immersionsobjektiv 1,3 einsetzt, erhält man für den kleinsten auflösbaren Gitterabstand etwa 250 nm. Das bedeutet für die Beobachtung von Kolloidpartikeln, dass man zwei Partikel nur dann eindeutig voneinander unterscheiden kann, solange sie mindestens 250 nm weit auseinander liegen. Zusätzlich muss ihr Kontrast (Gleichung 5.1) zum Hintergrund des mikroskopischen Bildes ausreichend groß sein, damit die Teilchen überhaupt erkannt werden können.

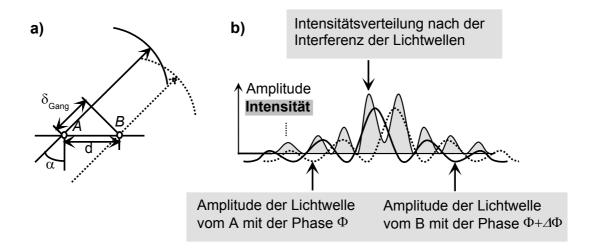
Die oben vorgestellte Gleichung für die Auflösungsgrenzen der Mikroskopie gilt nur für die kohärente Beleuchtung mit senkrecht zur Objektebene einfallenden Lichtwellen.

Durch eine schiefe Beleuchtung kann jedoch das Auflösungsvermögen gesteigert werden <sup>5.15</sup>. Die Durchlicht-Dunkelfeldmikroskopie erzeugt mit einer schiefen Beleuchtung den bereits beschriebenen Dunkelfeld-Effekt, bei dem das nullte Beugungsmaximum an der Frontlinse des Objektiv vorbei fällt und nur die Nebenmaxima an der Bildentstehung beteiligt sind.

Abbildung 5.5 a zeigt, wie bei einer schiefen Beleuchtung ein Gangunterschied zwischen den an zwei Bildpunkten (A und B) gebeugten Lichtwellen entsteht. Der Gangunterschied  $\Delta\lambda$  ist durch folgende Gleichung definiert <sup>5.15</sup>:

$$\Delta \lambda = d \cdot \sin(\alpha) \tag{5.5}$$

Dieser Gangunterschied  $\Delta\lambda$  führt dazu, dass in der Zwischenbildebene Lichtwellen mit unterschiedlicher Phase interferieren können. Wenn der Gangunterschied z. B. die halbe Wellenlänge  $\lambda$  des einfallenden Lichts beträgt, dann treffen die Lichtwellen mit ent-gegengesetzter Phase in der Zwischenbildebene ein. Punkt A und Punkt B erzeugen dort jeweils ein Beugungsscheibchen, aus deren Überlagerung in Abhängigkeit von ihrem Abstand schließlich das beobachtbare Endbild resultiert (Abbildung 5.5 b).



**Abb. 5.5:** Bildentstehung bei der Abbildung eines Nichtselbstleuchters bei schiefer Beleuchtung: a) Entstehung des Gangunterschieds  $\delta_{Gang}$  durch schiefe Beleuchtung, b) Intensitätsverteilung nach Interferenz der Lichtwellen von A und B.

Wenn man nun die Intensitätsverteilung eines Nichtselbstleuchters bei schiefer (Abbildung 5.5 b) und bei gerader Beleuchtung (senkrecht zur Objektebene) (Abbildung 5.3) miteinander vergleicht, so erkennt man, daß bei einem Abstand d von beispielsweise 200 nm zweier Bildpunkte nur die schiefe Beleuchtung eine deutliche Auflösung erreicht. Die Auflösungsgrenze bei schiefer Beleuchtung liegt also deutlich unter jener der geraden Beleuchtung (Gleichung 5.2).

Abschließend muss noch erwähnt werden, dass Nanokapseln gewöhnlich Nichtselbstleuchter sind. Sie bestehen aus einem Öltropfen mit einer für die Bildentstehung vernachlässigbaren Polymerhülle (siehe Kapitel 2). Wenn Licht auf ein Öltröpfchen fällt, dann wird beim Durchtritt dessen Amplitude kaum verändert. Es entsteht also kein Schattenwurf dieses Teilchens. Das Bild eines Öltröpfchens ent-

steht nur durch die Brechung der einfallenden Lichtstrahlen an der Phasengrenze von Öl zu Wasser <sup>5.12</sup>. Hier findet eine sprunghafte Änderung des Brechungsindex statt, wodurch das Licht gebrochen wird und Phasenunterschiede zwischen den gebeugten und ungebeugten Strahlen entstehen können. Nanokapseln müssen deshalb den so genannten Phasenobjekten zugeordnet werden.

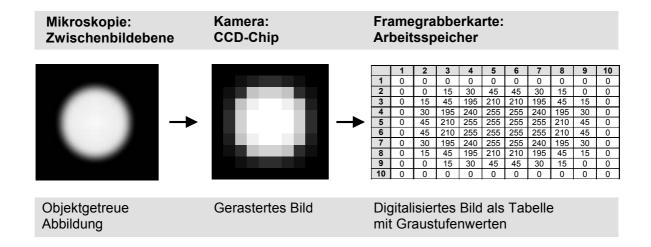
#### 5.3 Digitale Bildverarbeitung

Zu Zeiten der ersten Partikelradienbestimmungen wurden die Brownschen Bewegungen unter dem Mikroskop fotografiert oder mitgezeichnet. Die Auswertung der Bewegungsspuren erfolgte dann per Hand <sup>5.7</sup>. Mittels der modernen Computertechnik ist dies schon lange nicht mehr nötig. Das DNM-Verfahren verwendet eine CCD-Kamera mit einer *Framegrabber*-Karte zum Einfangen und Speichern der Bilder auf einem Computer (siehe Abbildung 5.1). Die Auswertung erfolgt anschließend vollautomatisch.

### 5.3.1 Die CCD-Kamera: Bildgewinnung

Die CCD-Kamera, die das Bild aus der Zwischenbildebene des Mikroskops aufnimmt, enthält einen zweidimensionalen Sensor (CCD-Chip), bestehend aus einer großen Anzahl von lichtempfindlichen Elementen <sup>5.17, 5.18</sup>. In diesen Halbleiterelementen werden durch auftreffende Photonen Ladungstrennungen bewirkt. Daher rührt auch der Name CCD für *Charged Coupled Device*. Der Prozess der Bildaufnahme beginnt damit, dass die Halbleiterelemente der Kamera eine bestimmte Zeit lang (Integrationszeit) belichtet werden. Nach dem anschließenden Auslesen der Ladungen der einzelnen Elemente überträgt die Kamera die Bildinformationen an die nachfolgende Systemgruppe. Dabei wird das Bild der Zwischenbildebene gemäß der Größe und Gestalt der Halbleiterelemente des CCD-Chip gerastert (siehe Abbildung 5.6), wobei man die einzelnen Elemente auch Pixel (*picture element*) nennt.

Die CCD-Kamera übersetzt die Helligkeit bzw. die Menge der eingetroffenen Photonen in ein analoges Spannungssignal für jedes Pixel und überträgt die Bildinformationen anschließend zeilenweise weiter. CCD-Kameras können das Auslesen der Zeilenelemente eines Chips in zweierlei Weise durchführen, im Halbzeilen- oder im Vollzeilenverfahren. Es wird dabei zwischen geraden und unge-



**Abb. 5.6:** Darstellung des Vorgangs der Bilddigitalisierung: Transformation der Objektstrukturen in ein gerastertes Bild mit Graustufenwerten zwischen 0 und 255.

raden Bildzeilen unterschieden. Im Halbzeilenverfahren werden zunächst alle ungeraden Zeilen (Reihenfolge: 1, 3, 5 ...) gesendet, anschließend sendet die Kamera die geraden Bildzeilen (Reihenfolge: 2, 4, 6 ...). In der Fernsehtechnik werden nach der europäischen CCIR-Norm (*Comité Consultatif International des Radiocommunications*) die beiden so entstandenen Halbbilder im 50 Hz Takt gesendet und danach überlagert als Vollbild mit 25 Hz dargestellt. Zur Messung von Bewegungen in der Messtechnik ist diese Übertragungsmethode allerdings nur schlecht geeignet, da bewegte Objekte im Bild verzerrt werden, wenn sie in der Zeit zwischen der Aufnahme der beiden Halbbilder ihre Positionen auch nur leicht verändert haben. Man spricht dabei auch vom Kamm-Effekt <sup>5.17</sup>. Die DNM-Methode nutzt das Vollbildverfahren, bei dem die Zeilen des Bildes komplett ausgelesen (Reihenfolge: 1,2,3,4 ...) und mit 25 Hz übertragen werden. Hier tritt der Kamm-Effekt nicht auf.

## 5.3.2 Die Framegrabber-Karte: Bildrestauration und Mustererkennung

Die nächste Systemkomponente nach der CCD-Kamera ist *Framegrabber*-Karte (siehe Abbildung 5.1). Sie empfängt das analoge Datensignal der aufgenommenen Bilder von der Kamera und digitalisiert es. Anschließend werden die Bilder als eine Filmsequenz abgespeichert. Die Anzahl der Bilder einer Sequenz hängt vom Speicherbedarf eines Bildes und damit von der Größe des Arbeitsspeichers der *Framegrabber*-Karte ab. Dabei werden die Bilddaten in Form einer Bildtabelle im

Arbeitsspeicher der Karte abgelegt (siehe Abbildung 5.6) und die Helligkeitsinformationen in Graustufenwerte zwischen 0 und 255 übersetzt (8-Bit Kodierung). 0 steht für einen unbelichteten bzw. schwarzen Pixel und 255 für einen weißen Pixel. Die Tabelle kann in Form einer Bildmatrix B(m,n) mit m⋅n Graustufenwerten G wiedergegeben werden:

$$B(m,n) = \begin{pmatrix} G(1,1) & G(1,2) & \cdots & \cdots & G(1,m-1) & G(1,m) \\ G(2,1) & G(2,2) & \cdots & \cdots & G(2,m-1) & G(2,m) \\ & \cdots & & \cdots & & \cdots & & \cdots \\ & \cdots & & \cdots & & \cdots & & \cdots \\ G(n-1,1) & G(n-1,2) & \cdots & \cdots & G(n-1,m-1) & G(n-1,m) \\ G(n,1) & G(n,2) & \cdots & \cdots & G(n,m-1) & G(n,m) \end{pmatrix} \ . \tag{5.6}$$

Die Methoden zur Bildrestauration werden allgemein verwendet um Bildstörungen wie z.B. Unschärfen, ungleichmäßige Ausleuchtungen, Hintergrundrauschen oder auch optische Verzerrungen in den Bildern zu eliminieren <sup>5.18, 5.19</sup>. Im Falle der DNM-Methode werden störende Bildhintergründe durch ein spezielles Bildsubtraktionsverfahren entfernt. Die hier SUB128 genannte Prozedur führt folgendes durch:

- a) Zunächst erfolgt die Speicherung des ersten Bildes einer Bildsequenz in einem speziellen Referenzspeicher  $B_{\text{Ref}}$ .
- b) Nacheinander werden die restlichen Bilder der Filmsequenz geladen und dabei in der Matrix B<sub>Akt</sub> zwischengespeichert. Zu jedem Bild wird folgende Matrizenoperation durchgeführt, bei der eine neue Matrix B<sub>Neu</sub> entsteht:

$$B_{\text{Neu}} = B_{\text{Akt}} - B_{\text{Ref}} \tag{5.7}$$

B<sub>Neu</sub> wird anschließend anstelle des Bildes der Matrix B<sub>Akt</sub> gespeichert.

c) Abschließend wird in jedem Bild der manipulierten Filmsequenz jeder Graustufenwert G in der Matrix P(m,n) um 128 erhöht. Anschließend erfolgt das Laden und Speichern der Bilder analog zu Schritt b:

$$B_{\text{Neu}} = B_{\text{Akt}} + 128 \cdot E \tag{5.8}$$

E ist hier die Einheitsmatrix.

Abbildung 5.7 zeigt die Restauration eines Bildes mittels der SUB128-Prozedur. Die SUB128-Prozedur löscht unbewegte Details aus den Bildern, wodurch störende Elemente im Bildhintergrund eliminiert werden. Sogenannte Graukeile, wie der der Abbildung 5.7 im vierten Bild einer Filmsequenz am linken Bildfeldrand zu erkennen ist, stören das Auffinden von hellen Objekten in diesem Bereichen sehr empfindlich. Diese Störung wird durch die Prozedur komplett entfernt. Im manipulierten Bild erkennt man dunkle Stellen, die die Anfangspositionen der bewegten Objekte in Bild 1 darstellen und durch die Subtraktion entstanden sind. Diese Stellen stören die weitere Auswertung deutlich weniger als der entfernte Graukeil in unserem Beispiel. Sie bewirken lediglich eine Verzerrung der sich bewegenden Objekte, wenn diese ihnen sehr nahe kommen oder sie durchlaufen.

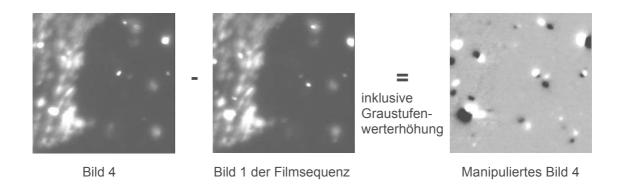
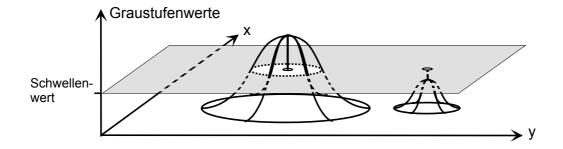


Abb. 5.7: Darstellung der Bildrestauration mit der SUB128 Prozedur.

Im nächsten Schritt der Digitalen Bildverarbeitung folgt die Mustererkennung <sup>5.18-5.20</sup>. Die DNM-Methode detektiert dabei mittels einer Objektklassifizierungsprozedur helle Objekte vor einem dunklen Hintergrund und berechnet ihren Flächenschwerpunkt <sup>5.21</sup>. Für die Unterscheidung zwischen Hintergrund und Objekt wird der Auswertungsprozedur ein Graustufenschwellenwert vorgegeben, oberhalb dessen beginnt die Prozedur die Objekte auszuwerten bzw. zu klassifizieren. Die Framegrabberkarte mit ihrem Steuerungsprogramm PicColor läuft dazu jedes Bild einer Filmsequenz zeilenweise durch. Dabei beginnt es in der oberen linken Bildecke und läuft die Zeile nach rechts durch. Wird in einer Zeile ein Pixel gefunden, dessen Graustufenwert über dem Schwellenwert liegt (siehe Abbildung 5.8), so beginnt die Prozedur das gefundene Objekt entlang des Grauschwellenwerts im Uhrzeigersinn zu umrunden.



**Abb. 5.8:** Darstellung der Erkennung von Objekten mit Hilfe des Graustufenschwellenwerts: Das linke Objekt bzw. dessen Grauwertverteilung wird erfasst. Das rechte Objekt ist nicht hell genug um die Schwelle zu überschreiten.

Nachdem dem das Objekt erfasst und dessen Pixelfläche gespeichert wurde, setzt die Prozedur die zeilenweise Suche im aktuellen Bild fort. Von den gefundenen Pixelflächen werden schließlich die Flächenschwerpunkte als Referenz für ihre Position im Gesamtbild berechnet und als Tabelle in einer Datei abgespeichert. Auf diese Weise entsteht eine Informationsdatei für eine Filmsequenz (kurz: DAT-Liste), in der untereinander aufgelistet die Positionen der Objekte jedes Bildes geschrieben sind.

Mit der Speicherung der Daten der Mustererkennung auf dem Computer sind die Bildverabeitungsoperationen der *Framegrabber*-Karte beendet. Die Analyse der Daten erfolgt abschließend auf dem Computer.

## 5.3.3 Bewegungsanalyse - *Motion Tracking*

In der nachfolgenden Datenanalyse werden die Positionsdaten der Objekte einer Filmsequenz mittels eines speziellen Computerprogrammes untersucht. Das Programm wurde so gestaltet, dass es folgende Arbeitsschritte durchführt:

- a) Zunächst erfolgt das Öffnen und Einlesen der Tabellenwerte aus der Informationsdatei und anschließend das Speichern der Daten im Arbeitsspeicher des Computers.
- b) Aus den Positionsdaten zu jedem Bild werden zusammenhängende Bewegungsspuren einzelner Objekte errechnet. Dieser Vorgang wird allgemein als Bewegungsanalyse bzw. *Motion Tracking* bezeichnet.

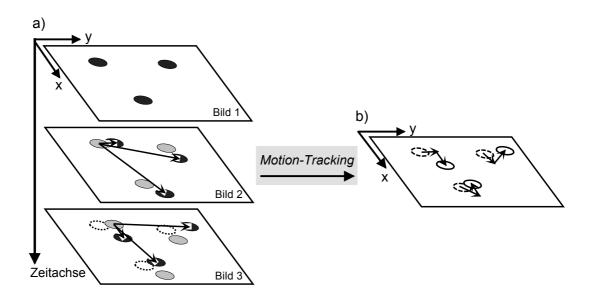
c) Mit Hilfe der gefundenen Spuren werden die Radien der Objekte berechnet (siehe Gleichung 3.14) und abschließend alle Radien in einem Histogramm zusammengefasst.

Der entscheidende Schritt der Datenanalyse ist das *Motion-Tracking*. *Motion-Tracking* Algorithmen sind in der Literatur häufiger zu finden <sup>5.22-5.24</sup>. Der hier verwendete Algorithmus ist anhand der Erfahrungen beim Umgang mit dem DNM-System angepasst worden. In der Prozedur, die in der Programmiersprache "Visual Basic for Applications" geschrieben ist, werden zwei Speicherlisten genutzt: Die Spurenliste (kurz: TRACK-Liste) für die gefundenen Positionen jedes Partikels und die Ausschlussliste (kurz: OUT-Liste) für Positionen im Bild, auf denen sich unbewegte Objekte befinden. Der Algorithmus geht bei der Verarbeitung der DAT-Liste einer Filmsequenz folgendermaßen vor:

- Zu Beginn der Auswertung werden die Partikelpositionen des ersten Bildes aus der DAT-Liste in die TRACK-List übertragen. Danach werden die Positionen des zweiten bis fünften Bildes (wahlweise auch mehr Bilder) mit denen des ersten verglichen und die Koordinaten aller unbewegten Objekte in die OUT-Liste eingetragen. Die Überprüfung mehrerer Bilder stellt dabei sicher, dass eine kurzzeitige Immobilisierung eines Partikels nicht als völliger Stillstand interpretiert werden kann (Stillstandskriterium).
- b) Nun beginnt die Spurenanalyse, wobei die Objektpositionen in jedem Bild (mit dem zweiten beginnend) nach und nach mit den Positionen in der TRACK-Liste verglichen werden. Anfangs werden die Objektkoordinaten in jedem Bild mit der OUT-Liste verglichen, wodurch unbewegte Objekte von der Auswertung ausgeschlossen werden.

Das *Motion-Tracking* berechnet für die Zuordnung der Objekte eines Bildes die Länge aller Verschiebungsvektoren zwischen den Objekten in der TRACK-Liste zu denen im aktuellen Bild (siehe Abbildung 5.9).

Für die kürzesten Vektoren bzw. Objektabstände werden die Positionspaarungen separat gespeichert (Zuordnungskriterium). Parallel werden bei der Untersuchung jedes nachfolgenden Bildes die gefundenen Koordinaten auf das Stillstandskriterium untersucht, um neu aufgetretene Partikelimmobilisierungen



**Abb. 5.9:** Modell zur Motion-Tracking Prozedur: a) Erstellen der Verschieungsvektoren mit anschließender Vektorlängenberechnung. b) Nach der Anwendung des Zuordnungskriteriums folgt die Zuordnung der Partikelpuren.

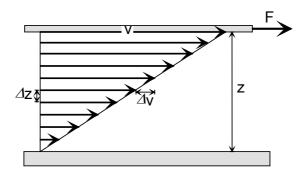
zu erfassen und die zugehörigen Positionen in die OUT-Liste einzutragen. Zum Abschluss sucht die Prozedur nach fehlerhaften Zuweisungen von Positionspaarungen, wobei diese wie folgt eingeteilt werden können:

- Zwei Objekte im vorangegangen Bild besitzen im nächsten die gleiche Position. Hier kann angenommen werden, dass sich zwei Objekte im Verlauf ihrer Bewegung sehr nahe gekommen sind oder sich ihre Wege gekreuzt haben. Es ist ebenfalls möglich, dass ein neues Objekt in der Nähe hinzugekommen ist.
  - ⇒ Beide Spuren werden in der TRACK-Liste beendet. Die Position im n\u00e4chsten Bild, die doppelt zugewiesen war, wird als neues Objekt in die TRACK-Liste eingetragen.
- Ein Objekt konnte im nächsten Bild nicht wiedergefunden werden, wofür ein Grund sein könnte, dass es den Betrachtungsraum verlassen hat oder es aufgrund der Nähe zu einem zweiten Objekt falsch zugewiesen wurde. Man findet für die neue Position dann eine doppelte Zuweisung (siehe vorangegangener Punkt).
  - ⇒ Die Spur des Objekt wird in der TRACK-Liste beendet.

- Ein Objekt wurde im nächsten Bild gefunden, das nicht einer Position in der TRACK-Liste zugeordnet werden konnte. Auch hier wurde die Spur einer Position zugewiesen, die zu einer anderen Spur gehört (siehe oberster Punkt).
  - ⇒ Das Objekt wird als ein neues Objekt in die TRACK-Liste eingetragen.

Durch die Korrektur dieser Fehlzuweisungen des Zuordnungskriteriums entsteht für jedes Objekt in der Bildsequenz eine, gegebenfalls auch zwei Spuren, wenn es an einer oder mehreren Kollisionen mit anderen Partikel beteiligt war. Mit anderen Worten wird die Spur durch Kollisionen in mehrere Einzelspuren zerlegt. Um diesen Effekt zu unterdrücken, müssen die Abstände zwischen den Objekten groß genug bzw. die Objektdichte in der Probe gering genug sein.

Die Auswertung der Spurenanalyse berechnet abschließend aus den Spurendaten der einzelnen Partikel gemäß der Gleichung von A. Einstein 3.14 ihre hydrodynamischen Radien. Bei der Radienberechnung müssen jedoch störende Wechselwirkungen berücksichtigt werden, die aufgrund des kleinen Wandabstands im Vergleich zu den Partikelgrößen auftreten. So steigt in der Nähe von Wänden die Viskosität einer Flüssigkeit scheinbar an. Dieses Phänomen kann man anhand des Newtonschen Geschwindigkeitsgefälles in Flüssigkeiten erklären. In der Modellvorstellung wird dazu eine ebene Platte mit einer konstanten Geschwindigkeit v zu einer parallelen Wand bewegt (siehe Abbildung 5.10). Die Flüssigkeit zwischen den Platten wird dabei geschert, worauf sich die modellgemäß auftretenden Flüssigkeitsschichten mit unterschiedlicher Geschwindigkeit bewegen.



**Abb. 5.10:** Darstellung des Newtonschen Geschwindigkeitsgefälles in einer Flüssigkeit.

Zur kontinuierlichen Bewegung der Platte muss eine Kraft F aufgebracht werden, die dem Betrag nach der Reibungskraft  $F_{RW}$  entspricht. Dabei wird die Reibung zwischen den Schichten durch die Viskosität  $\eta$  der Flüssigkeit bedingt. Der entstehende Geschwindigkeitsgradient kann mit  $\Delta v/\Delta z$  beschrieben werden und es gilt:

$$F_{RW} = \eta \cdot A \cdot \frac{\Delta V}{\Delta Z} , \qquad (5.9)$$

mit A als Querschnittsfläche der Flüssigkeitssäule zwischen Platte und Wand. Bei großen Distanzen z zur Wand tendiert der Geschwindigkeitsgradient und damit auch der Wert der durch die Gefäßwand bewirkten Reibungskraft F<sub>RW</sub> gegen null. Betrachtet man die Platte als einen Ausschnitt aus der Oberfläche einer sphärischen Nanokapsel, so wird die Bewegung des Teilchens mit wachsendem Abstand zur Wand immer geringer durch diese verzögert. Im Gegenschluss erhöht sich für das Teilchen die Reibungskraft in der Nähe zur Wand und es vollführt seine Brownsche Bewegung langsamer.

A. H. Lorentz errechnete ein Verhältnis für den Widerstand der Bewegung einer starren Kugel parallel zu einer Wand im Vergleich zu dessen Widerstand  $F_R$  in einem unbegrenzten Medium  $^{5.25}$ :

$$\frac{F_{R}}{F_{R} + F_{RW}} = \frac{1}{1 + \frac{9 R_{H}}{16 a}} . {(5.10)}$$

a ist hier der Abstand des Kugelzentrums zur Wand. Man erkennt, dass neben dem Abstand zur Wand auch der Kugelradius R<sub>H</sub> Einfluss auf die Reibungskraft ausübt.

Da sich der Abstand der Teilchen zur Wand aufgrund der Bewegung ständig verändert und im Falle der Mikroskopie zwei Wände (Objektträger und Deckglas mit einem Abstand d) zu berücksichtigen sind, stellte I. Nordlund eine erweiterte Lösung vor <sup>5.26</sup>. Er berechnet die durchschnittliche Veränderung des Widerstands auf der Grundlage der Lorentzschen Gleichung unter der Annahme, dass die Teilchen mit gleich großer Wahrscheinlichkeit jeden Abstand zu den beiden Wänden, von r bis d-r, einnehmen:

$$F_{\infty} = \frac{F}{d - 2 R_{H}} \int_{r}^{d-r} \frac{da}{\left(1 + \frac{9 R_{H}}{16 a}\right) \left(1 + \frac{9 R_{H}}{16 (d - a)}\right)}, \qquad (5.11)$$

mit  $F_{\infty}$  als die Reibungskraft in einem unendlich erstreckten Medium und F als Reibungskraft in einem durch zwei planparallele Wände begrenzten Medium. Der Nenner im Integral enthält zwei Terme, von denen der erste Term  $_{1+}\frac{9\ R_{H}}{16\ a}$  die Widerstandsänderung aufgrund der nahen Wand und der zweite Term  $_{1+}\frac{9\ R_{H}}{16\ (d-a)}$  die Widerstandsänderung wegen der zweiten, gegenüberliegende Wand berücksichtigt. Der Bruch  $_{\overline{d-2\cdot R_{H}}}$  vor dem Integral dient als Normierungsfaktor. Nach der Integration erhält man:

$$F_{\infty} = x F \Leftrightarrow F = \frac{F_{\infty}}{x}$$
 (5.12)

mit

$$x = 1 - \frac{9 R_{H} (16 d + 9 R_{H})}{16 (d - 2 R_{H}) (8 d + 9 R_{H})} \ln \frac{16 d - 7 R_{H}}{25 R_{H}} .$$
 (5.13)

Entsprechend lässt sich die scheinbare Viskosität  $\eta$  aus der Viskosität eines sich unendlich erstreckenden Mediums  $\eta_{\infty}$  berechnen, weil  $\eta \propto F$  ist:

$$\eta = \frac{\eta_{\infty}}{x} . ag{5.14}$$

Durch die Kalibrierung (siehe Kapitel 7.2.2) wird für das Messsystem der Wert von  $(\eta/T)_{\infty}$  ermittelt. So kann der hydrodynamische Radius eines Teilchens nach der Umrechnung des Werts für  $(\eta/T)_{\infty}$  in  $\eta/T$  unter Berücksichtigung des Wandabstands bestimmt werden:

$$\frac{\eta}{T} = \frac{\left(\frac{\eta}{T}\right)_{\infty}}{x} . \tag{5.15}$$

Da x jedoch eine transzendente Funktion des Radius  $R_H$  ist, wird hier zur korrekten Berechnung des Radius ein Iterationsalgorithmus angewendet. Die Approximation des Teilchenradius wird in den nachfolgenden Punkten erklärt:

- Zunächst erfolgt die Berechnung des hydrodynamischen Teilchenradius  $R_H$  über die Gleichung von A. Einstein mit dem aus der Kalibrierung gewonnen Wert für  $(\eta/T)_\infty$ , sowie dem gemessenen mittleren Verschiebungsquadrat und der Beobachtungszeit  $\Delta$ . Dieser Wert  $R_H$  wird anschließend zusammen mit dem Wandabstand für die Berechnung des Korrekturfaktors x (siehe Gleichung 5.13) benutzt, wodurch der Wandeinfluss berücksichtigt wird. Mit Hilfe des x-Werts wird dann wie beschrieben der Wert von  $(\eta/T)_\infty$  in  $\eta/T$  umgerechnet.
- b) Mit Hilfe dieses  $\eta$ /T-Werts kann nun ein neuer Radius berechnet und für eine erneute Kalkulation des Korrekturfaktors x benutzt werden.
- c) Es zeigt sich, dass sich der berechnete Radius im Allgemeinen nach der vierten Iteration nicht mehr entscheidend verändert.

Eine Auflistung der wichtigsten Programmcodezeilen befindet sich in Kapitel 7.2. Des Weiteren werden dort die Einstellungen zur Bildgröße, Bildrate oder Grauwertschwellen sowie die Ergebnisse der Kalibration des DNM-Systems erläutert.

### Literatur:

- 5.1 **W. Schaertl, H. Sillescu** J. Colloid Interface Sci., 155, 313-318, (1993)
- 5.2 **J.C. Crocker, D.G. Grier** J. Colloid Interface Sci., 179, 298-310, (1995)
- 5.3 **J. Bongers, H. Manteufel, K. Vondermaßen, H. Versmold**, Colloid and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 142, 381-385, (1998)
- 5.4 **T. Sugimoto, T. Takahashi, H. Itoh, A. Muramatsu**, Langmuir, 13, 5528-5530, (1997)
- 5.5 P. Jokela, P.D.I. Fletcher, R. Aveyard, J.-R. Lu, J. Colloid Interface Sci., 134,2, 417-426, (1989)
- 5.6 **A. Einstein**, Ann. Phys. 17, 549-560, (1905); 19, 371-381, (1906)
- 5.7 **T. Svedberg**, Jahr. f. Radioaktivität u. Elektronik, 10, 467-515, (1913)
- 5.8 **M. Wohlgemuth**, Diplomarbeit im Fach Chemie an der Universität Duisburg, (1997)
- 5.9 **Ch. Finder**, Diplomarbeit im Fach Chemie an der Universität Duisburg, (1999)
- 5.10 **H. Siedentopf, R. Zsigmondy**, Ann. Phys. 10, 1-39, (1903)
- 5.11 **W. v. Ignatowski**, Z. Wiss. Mikr. 28, 52-55, (1911)
- 5.12 **G. Göke**: "Moderne Methoden der Lichtmikroskopie", Kosmos Verlag Stuttgart, (1988)
- 5.13 **M. Pluta**: "Advanced Light Microscopy", PWN-Polish Scientific Publisher Warschau, (1989)
- 5.14 **O. Lummer, F. Reiche**: "Die Lehre von der Bildentstehung im Mikroskop", F. Vieweg u. Sohn Verlag Braunschweig, (1910)
- 5.15 **K. Michel**: "Die Grundzüge der Theorie des Mikroskops", 2. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft M. B. H. Stuttgart, (1964)
- 5.16 **H. Haferkorn**: "Optik", Verlag Harri Deutsch Thun Frankfurt/M., (1981)
- 5.17 DBS-Katalog "Digitale Bildverarbeitung", DBS-GmbH, (1999)
- 5.18 **B. Jähne**: "Digitale Bildverarbeitung", 4. Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, (1997)
- 5.19 **R.C. Gonzales, R. E. Woods**: " Digital image processing", Addison-Wesley Publishing Company, (1993)
- 5.20 **P. Haberäcker**: "Digitale Bildverarbeitung", 3. Auflage, Carl Hanser Verlag München Wien, (1989)

- 5.21 Forschungsinstitute für Bildverarbeitung, Umwelttechnik und Stömungsmechanik: Handbuch zur Bildverarbeitungssoftware PicColor®, Version 3.3, (1999)
- 5.22 **B.R. Frieden, C.K. Zoltani**, Applied Optics, 28, 4, 652-655, (1989)
- 5.23 **W. Schaertl, H. Sillescu**, J. Colloid Interface Sci., 155, 313-318, (1993)
- 5.24 **J.C. Crocker, D.G. Grier**, J. Colloid Interface Sci., 179, 298-310, (1995)
- 5.25 **A. H. Lorentz**, Abhandl. über theor. Physik, 1, 23, (1907)
- 5.26 **I. Nordlund**, Z. Phys. Chem. 87, 40-62, (1914)

## Kapitel 6

## **Ergebnisse und Diskussion**

### 6.1 Einleitung

Bei den physikochemischen Untersuchungen in dieser Arbeit spielen die Methoden der *Dynamic Nanosizing Microscopy* (DNM) und die *Pulsed Field Gradient Nuclear Magnetic Resonance* (PFG-NMR) Spektroskopie eine entscheidende Rolle. Beide Analyseverfahren wurden in diesem Zusammenhang zuvor noch nicht verwendet, weshalb zunächst eine ausgiebige Prüfung ihrer Charakteristika bei der Messung von Nanokapseldispersionen nötig ist. Die DNM-Methode wird zugleich als eine neue Methode zur Partikelgrößenbestimmung vorgestellt, um ihre Leistungsfähigkeit zu belegen.

Zur Begriffsklärung muss darauf hingewiesen werden, dass bei den Analysen zwei verschiedene Nanokapselsyntheseverfahren zur Anwendung kamen. In den nachfolgenden Kapitel werden sie als die klassische Synthese <sup>6.1</sup> und als die modifizierte Synthese bezeichnet <sup>6.2</sup>.

In Kapitel 6.2 werden zunächst die notwendigen Zuordnungen der Resonanzlinien in den NMR-Spektren zu den zugehörigen Substanzen der Dispersionen getroffen. Außerdem wird hier das Potential der DNM-Methode u.a. anhand der Ergebnisse der Kalibrationsmessungen vorgestellt.

Das nachfolgende Kapitel 6.3 beschäftigt sich mit Untersuchungen zu den Einflüssen von Syntheseparametern wie Scherung oder Ölkonzentration auf Größenverteilungen und insbesondere die Wirkung von unterschiedlichen pH-Werten auf die Ausbildung der polymeren Kapselwände.

Zur Fragestellung der Haltbarkeit von Nanokapseldispersionen werden in Kapitel 6.4 die Reifungsprozesse von Nanokapseln im Vergleich zu Emulsionen verfolgt.

Die Kapitel 6.5 bis 6.8 beschreiben die Diffusionscharakteristika und Verteilungsgleichgewichte der verschiedenen Komponenten in Dispersionen. Beginnend mit dem Tensid und dessen Adsorptionsverhalten an den Kapseloberflächen und in Mizellen, werden anschließend die Einflüsse der Wände auf die Beweglichkeit des eingeschlossenen Öls und das Verteilungsgleichgewicht von Ethanol in organischer und wässriger Phase diskutiert.

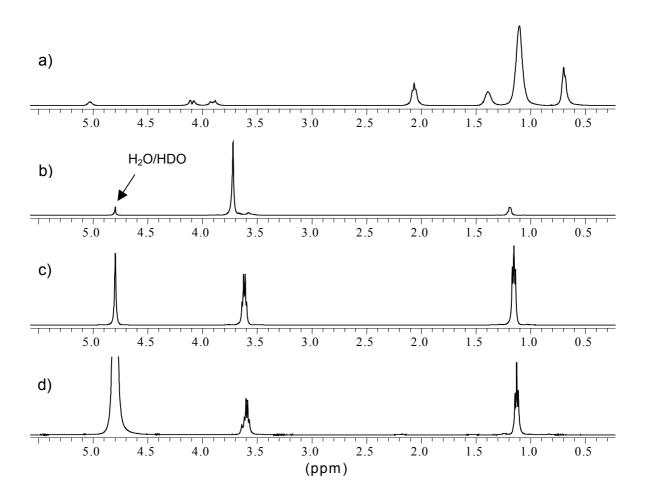
Abschließend wird im Kapitel 6.9 ein detailliertes Modell zum Austauschverhalten von eingekapselten Komponenten mit der Kapselumgebung vorgestellt. Als Modellwirkstoff wurde dazu Benzol bei der Untersuchung des Kapselwandwiderstands und von Solubilisationsmechanismen von lipophilen Verbindungen verwendet.

## 6.2 Voruntersuchungen zur PFG-NMR und DNM an Nanokapseln

## 6.2.1 Zuordnung der <sup>1</sup>H-NMR-Resonanzlinien

Bei der Untersuchung von Diffusionsvorgängen anhand von NMR-Spektren in Nanokapseldispersionen müssen die einzelnen Resonanzen in den Spektren den Komponenten der Systeme eindeutig zugeordnet werden. Wie schon in Kapitel 2.2 beschrieben, setzen sich Nanokapseldispersionen aus Wasser, Ethanol, Tensid, Öl und dem Poly-n-butylcyanoacrylat zusammen. Im Gegensatz zur klassischen Synthese mit neutraler organischer Phase kommen bei der modifizierten Synthese mit der angesäuerten organischen Phase noch Chlorid- und H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>-Ionen und der Phosphatpuffer hinzu. Die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren von Nanokapseldispersionen enthalten, aufgrund ihrer gemeinsamen Komponentenzusammensetzungen, alle die gleichen Resonanzlinien. Für die Zuordnung der Linien zu ihren Komponenten sind in Abbildung 6.1 die Spektren der einzelnen Verbindungen gegen das Spektrum einer Nanokapseldispersion aufgetragen.

Wie der Vergleich zeigt, überlagern sich teilweise die Resonanzlinien der einzelnen Komponenten. Wenn man die Diffusion der Tensidmoleküle beobachten will, so muss dabei berücksichtigt werden, dass im Spektrum der Dispersion d) der Tensidpeak bei 3,7 ppm vom benachbarten Ethanolpeak überlagert wird. In gleicher Weise wird die Resonanzlinie des Öls bei 1,1 ppm von der des Ethanols überlagert. Im Gegensatz zur Beobachtung der Tensiddiffusion kann im Falle des Öls auf den freiliegenden Peak bei 2,1 ppm zurückgegriffen werden, um die Beweglichkeit dieser Komponente zu bestimmen. Das Resonanzsignal des Wassers bei 4,8 ppm fällt mit dem Peak der OH-Gruppe des Ethanols zusammen.



**Abb. 6.1:**  $^{1}$ H-NMR-Spektren (mit PFG-Messkopf aufgenommen): a) Ölkomponente Miglyol<sup>®</sup> 812 N, b) Tensidkomponente Synperonic<sup>®</sup> PE / F68 (in D<sub>2</sub>O gelöst), c) Ethanol (in D<sub>2</sub>O gelöst) und d) Nanokapseldispersion.

In den Tabellen 6.1 bis 6.3 werden die einzelnen Signale der vier Spektren den Protonen der jeweiligen Komponenten zugeordnet. Eine ähnliche Zuordnung der Resonanzen wurde in der Literatur angegeben, wobei dort die Substanzen im Gegensatz zu unserem Fall in Deuterochloroform (CDCl<sub>3</sub>) gelöst und mit einem

hochauflösenden Messkopf gemessen wurden <sup>6.3</sup>. Mit Hilfe der neuen Indizierung werden einerseits kleine Verschiebungen der Resonanzlinien aufgrund der Verwendung von D<sub>2</sub>O an Stelle von CDCl<sub>3</sub> als Lösemittel berücksichtigt und andererseits die geringere Auflösung des PFG-Messkopfes bei den Signalformen erfasst.

**Tabelle 6.1:** <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Miglyol<sup>®</sup> 812 N in D<sub>2</sub>O (Abbildung 6.1 a):

	H-Nr.	chemische Verschiebung	Integral- verhältnis
$H_{2}^{2}$ C-O-CO-C $H_{2}^{3}$ -C $H_{2}$ -(C $H_{2}$ -) <sub>n</sub> C $H_{3}$	1	5,03 ppm	1
	2	4,10 ppm	2
$\begin{array}{ c c c c c c c c c c c c c c c c c c c$	2	3,90 ppm	2
$H_{2}^{2}C-O-CO-CH_{2}-CH_{2}+CH_{2}+CH_{2}-CH_{3}$	3	2,08 ppm	6
Carbonsäuregehalt	4	1,39 ppm	6
N = 4: Caprylsäure 50-65 %	5	1,12 ppm	30
N = 6: Caprinsäure 30-45 % Als Hauptbestandteile	6	0,70 ppm	9

**Tabelle 6.2:** <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Synperonic<sup>®</sup> PE / F68 in D<sub>2</sub>O (Abbildung 6.1 b):

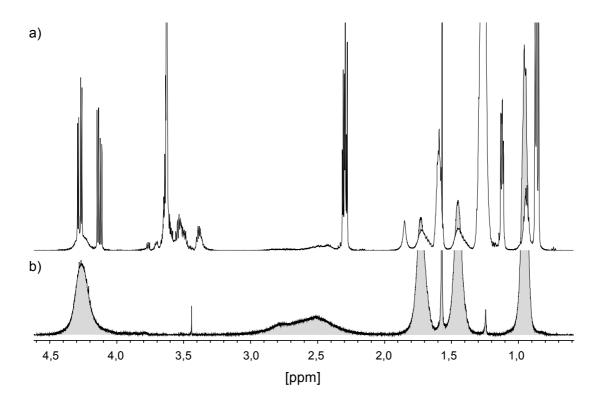
1 1		H-Nr.	Chemische Verschiebung	Integral- verhältnis
H (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> (CHCH <sub>2</sub> O) <sub>m</sub> CH <sub>3</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>m</sub> OH	Verhältnis n/m von 0,80-0,89 <sup>6.4</sup>	1	3,72 ppm bis 3,57 ppm	30
		2	1,19 ppm	5

**Tabelle 6.3:** <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Ethanol in D<sub>2</sub>O (Abbildung 6.1 c):

1 2	H-Nr.	Chemische Verschiebung	Integral- verhältnis
H−O−CH₂CH₃	1	3,62 ppm	2
	2	1,13 ppm	3

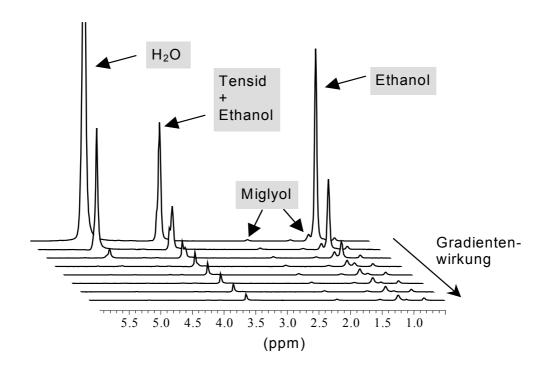
Die polymeren Verbindungen, die die Wand bilden, sind als Festkörper mit dem hier verwendeten Diffusionsmesskopf des NMR-Spektrometers nicht beobachtbar. Dies wird besonders durch den Aufbau des Messkopfes bedingt, welcher für die Messung hochpolymerer bzw. rigider Substanzen nicht geeignet ist. Zusätzlich stört der große Wasseranteil der Probe die Detektion schwacher Resonanzen, da

aufgrund der intensiven Wasserresonanz die Empfindlichkeit des Spektrometers heruntergesetzt werden muss. Die Beobachtung von Protonenresonanzen im Polynbutylcyanoacrylat gelingt nur bei niedermolekularen Polymeren und nach dem Auflösen von gefriergetrockneten Nanokapseln in CDCl<sub>3</sub>. Der Grund dafür ist die Mobilitätszunahme bei kurzkettigen Polymeren im gelösten Zustand, was zu einer Verschmälerung ihrer Resonanzlinien führt. Durch den Gewinn an Beweglichkeit wird der Effekt der dipolaren Kopplung zwischen den Protonen in der Kette vermindert <sup>6.5</sup>. Die Analyse der Molmassenverteilungen mit Hilfe einer Messanordnung gekoppelt aus Größenausschlusschromatographie und der Methode der statischen Lichtstreuung (SEC-MALLS) ergab, dass bei der Synthese von Nanokapseln mit dem modifizierten Verfahren relativ kurzkettige Polymere mit Molmassen von rund 8000-10000 g/mol (Gewichtsmittel) entstehen <sup>6.6</sup>. Die Protonenresonanzen dieser niedermolekularen Polymere können im Spektrum mit einem hochauflösenden Messkopf beobachtet werden (siehe Abbildung 6.2) <sup>6.3</sup>.



**Abb. 6.2:** Hochaufgelöstes <sup>1</sup>H-NMR Spektrum: a) In CDCl<sub>3</sub> aufgelöste Nanokapseln (modifizierte Synthese) b) Poly-n-butylcyanoacrylat in CDCl<sub>3</sub> <sup>6.3</sup>.

Bei den nachfolgenden Messergebnissen und deren Diskussion wurden mit Hilfe der PFG-NMR-Methode Diffusionskoeffizienten gemessen bzw. Diffusionsverhaltensweisen beobachtet. Grundlage ist dabei, dass die Signalflächen in Abhängigkeit von translatorischen Bewegungen bei steigenden Gradientenwirkungen unterschiedlich stark abgebaut werden. Die Flächen der Signale werden dann zur Interpretation auf verschiedene Weisen gegen die Gradientenwirkung aufgetragen. In
Abbildung 6.3 sind die Signalzerfälle der Komponenten einer Nanokapseldispersion
bei steigender Gradientenwirkung anhand der einzelnen Spektren dargestellt. In den
weiteren Ausführungen werden nur noch in besonderen Fällen Darstellung dieser Art
verwendet, ansonsten werden die Intensitäts- bzw. Flächenverluste in Form von
Graphen skizziert.



**Abb. 6.3:** PFG-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren zur Darstellung des Signalzerfalls in Abhängigkeit von Gradientenwirkung und Molekülbeweglichkeit.

Man erkennt in der Abbildung, wie mit Hilfe der Magnetfeldgradienten eine Trennung zwischen den verschiedenen Bereichen des Signalzerfalls möglich wird. Im Falle der überlagerten Linien von Ethanol und Tensid findet mit steigender Gradientenwirkung zunächst ein schneller Signalabfall statt. Anschließend bleibt ein sich nur schwach abbauendes kleines Signal zurück. Wie später noch gezeigt wird, lassen sich beide Teilverläufe jeweils einer der beiden Komponenten zuordnen (siehe Kapitel 6.6 und 6.8). Das unterschiedliche Verhalten wird dabei durch ihre verschiedenen Diffusionskoeffizienten verursacht. Die PFG-NMR bietet folglich die Möglichkeit, die Kompo-

nenten in einem überlagerten Spektrum aufzulösen, wenn sie sich bezüglich ihrer Mobilitäten unterscheiden.

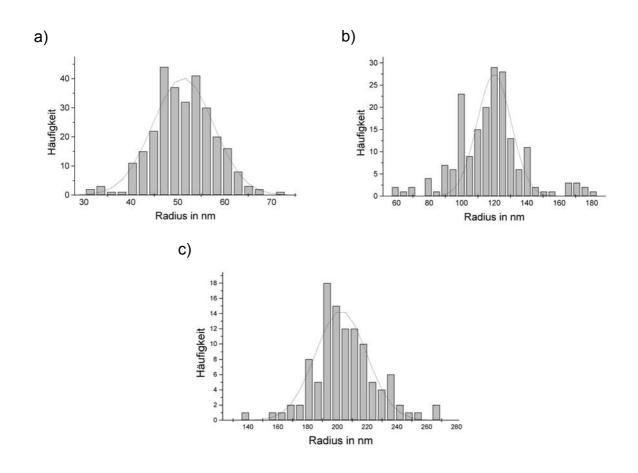
## 6.2.2 Potential der Dynamic Nanosizing Microscopy (DNM)

Bei der Entwicklung einer neuen Methode in Konkurrenz zu zahlreichen bereits existierenden, wie hier geschehen, stellt sich immer die Frage nach dem Sinn und Zweck. Der Anwender findet zur Bestimmung von Partikelradien in Nanometermaßstab gleich mehrere Verfahren, die sich grob in zwei Klassen unterteilen lassen <sup>6.7</sup>. Gängige Methoden wie die "Turbidimetry" und die Statische Lichtstreuung messen nur mittlere Partikelgrößen, die Elektronenmikroskopie, das Verfahren der Analytischen Ultrazentrifugation (AUZ) und auch die Dynamische Lichtstreuung (DLS) ermitteln Partikelgrößenverteilungen. 1995 wurden in einer Publikation die verschiedenen Verfahren miteinander verglichen <sup>6.7</sup>. Dazu versandte man weltweit an 10 Laboratorien der Bayer AG jeweils sieben Dispersionen mit unterschiedlichen und für die Empfänger unbekannten Zusammensetzungen. Unter diesen Proben waren monomodale Polystyrolsuspensionen, bimodale und hexamodale Polystyrolpartikelverteilungen, Mischungen von Partikeln aus unterschiedlichen Materialien sowie Hybridpartikel, die im einzelnen aus mehreren polymeren Komponenten zusammengesetzt sind. Alle Partikel lagen mit ihren Radien von 70 bis 800 nm im Größenbereich der Nanokapseln. Die Laboratorien bekamen die Aufgabe, jedes ihrer erprobten Verfahren zur Größenanalyse einzusetzen. Die Ergebnisse zeigten, dass lediglich die Methoden der Elektronenmikroskopie und der AUZ zuverlässig unimodale und bimodale Verteilungen von Polystyrolpartikeln bestimmen können. Es traten hier Abweichungen bei den Zahlenmittelwerten der Durchmesser von maximal ±7 % auf. Bezüglich der gefunden Massenanteile wich das Ergebnis bei den bimodalen Verteilungen um höchstens ±3 % von den erwarteten Werten ab. Die anderen Methoden, speziell die DLS, versagten hier völlig. Die Halbwertsbreiten der Verteilungen waren bis zu dreimal so groß und die bimodalen Verteilungen wurden nicht aufgelöst, sondern als eine breite Verteilung wiedergegeben. Die Auflösung der hexamodalen Verteilung und der Größenverteilung der Hybridpartikel gelang ebenfalls ausschließlich mit den Methoden der Elektronenmikroskopie und der AUZ, allerdings nicht vollständig. Hier wurden, besonders im Falle der Ultrazentrifuge, die Abweichungen bezüglich der Massenverteilungen und der mittleren Radien deutlich größer. Außerdem fand man nur vier, maximal fünf der sechs Partikelgrößen oder die Verteilungsverhältnisse wichen stark von den Einwaagen ab. Insgesamt überzeugt keine der Methoden bei der Messung von allen sieben Dispersionen.

Ein besonderes Problem, speziell für die Methoden AUZ und DLS, stellt die Messung von Hybridpartikeln dar. Nanokapseln gehören zur Klasse der Hybridpartikel, da sie gemäß der Definition dieser Partikelklasse aus mehreren Komponenten aufgebaut sind. Ihre Dichte hängt folglich von ihrer Zusammensetzung ab. Auf genaue Dichteinformationen sind andererseits beide erwähnten Methoden angewiesen. Das DNM-Verfahren benötigt keine derartigen Informationen, lediglich eine Differenz in den Brechzahlen zwischen Teilchen und Umgebung ist notwendig, damit die Teilchen das Beleuchtungslicht streuen können. Hier liegt eindeutig eine der Stärken der Methode. Rückblickend wird nun verständlich, warum die Entwicklung eines neuen Verfahrens zur Messung von Partikelgrößen, besonders für Hybridpartikel, als notwendig erscheint.

Zur Demonstration der Genauigkeit der DNM-Messmethode eignen sich Größenbestimmungen an Polystyrolpartikeln mit bekannten Radienverteilungen besonders gut. Die gewählten Partikelstandards mit Radien von 51  $\pm$  2 nm, 120  $\pm$  3 nm und 202  $\pm$  2 nm werden auch allgemein zur Kalibration der Methode verwendet (siehe Kapitel 7.2.2). In Abbildung 6.4 a) bis c) sind die gemessenen Radienverteilungen der drei Standards dargestellt. Es wird jeweils eine Gausskurve als beste Anpassung den Daten gegenübergestellt. Tabelle 6.4 vergleicht die gefundenen Verteilungsdaten mit den vom Hersteller der Partikelstandards vorgegebenen Werten und zeigt die zugehörigen Temperaturabweichungen.

Die Temperaturwerte der einzelnen Standardmessungen repräsentieren die Korrekturwerte gegenüber der Raumtemperatur, die notwendig waren, um bei der Berechnung nach dem Auswertungsverfahren aus Kapitel 5.3.3 den jeweils passenden Radius zu ermitteln. Die Abweichungen zwischen den drei Temperaturwerten sind relativ klein und werden vermutlich durch das 100 W starke Beleuchtungslicht des Mikroskops verursacht. Selbst die Filterung durch ein in den Strahlengang eingebautes Wasserbad kann die Erwärmung nicht weit genug vermindern. Bei der Form der gemessenen Verteilungen fallen zunächst einige wenige Ausreißer auf. Dabei muss gesagt werden, dass alle drei Standards mit einem minimalen Zeitauf-



**Abb. 6.4:** DNM-Messungen: Gemessene Radienverteilungen der Partikelstandards: a) 51  $\pm$ 2 nm, b) 120  $\pm$ 3 nm und c) 202  $\pm$ 2 nm.

Tabelle 6.4: Ergebnisse der Kalibration mit Hilfe einzelner Größenstandards:

Meßergebnis: Partikelradien (Zahlenmittel)	Relativer Fehler	Temperaturab- weichung von der Raumtemperatur	Herstellerangabe: Partikelradien (Zahlenmittel)
51,0 ± 6,4 nm	13,0 %	+ 4 °C	51,0 ± 2 nm
120,5 ± 10,9 nm	9,1 %	+ 8,5 °C	120,0 ± 3 nm
202,7 ± 17,2 nm	8,5 %	+ 7,5 °C	202,0 ± 2 nm

wand untersucht wurden, um die Zuverlässigkeit auch bei Messungen mit nur wenigen observierten Partikeln (hier 200-300) zu testen. Längere Messzeiten ergeben erfahrungsgemäß besser proportionierte Verteilungen.

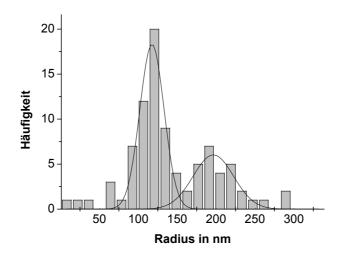
Die gefundenen absoluten Fehler der Partikelradien weichen mit steigendem Radius stärker von den erwarteten Werten des Herstellers ab. Vergleicht man dazu die Entwicklung des relativen Fehlers, so werden die Werte zu größeren Radien hin

kleiner. Bei der Erfassung von Partikeln mit geringerer Größe wird an dieser Stelle ein besonderer systematischer Fehler der Messmethode deutlich. Die Erfassung kleinerer und damit höher beweglicherer Objekte stößt hier an optische und zeitliche Detektionsgrenzen. Zur deren Minimierung wäre ein höher lichtempfindlicheres Bildakquisitionssystem und eine längere Beobachtungszeit nötig, um eine vollständigere Gaussverteilung der Partikelbewegungen messen zu können.

Neben der Kalibration wurden die drei Partikelstandards verwendet, um höhermodale Verteilungen untersuchen zu können. Dabei ergab sich zunächst das Problem, dass Mischungen der 120 und 202 nm Standards mit dem 51 nm Standard zu Agglomerationen führten und deshalb nicht getrennte Größenschwerpunkte, sondern nur breite monomodale Verteilungen gemessen werden konnten. Für die Messung einer bimodalen Verteilung wurden die 120 und 202 nm Standards in einem Partikelverhältnis von 1,6 zu 1 gemischt. Im Histogramm der gemessen Partikelradien finden sich zwei deutlich getrennte Verteilungen wieder (siehe Abbildung 6.5). Die Anpassung an zwei Gaussverteilungen liefert ein Mengenverhältnis von 1,8 zu 1 bezüglich des 120 zum 202 nm Standard (siehe Tabelle 6.5).

Die Daten zeigen eine gute Übereinstimmung. Der leichte Überschuss der kleineren Partikel im Vergleich zwischen dem eingewogenen und dem gemessenen Partikelverhältnis kann auf mehreren Ursachen beruhen. Zunächst kann eine unzureichende Messzeit und die damit verbundene geringere Anzahl an observierten Partikeln Fehler in der Statistik verursachen. Es ist ebenfalls denkbar, dass die Verschiebung des Partikelverhältnisses von der höheren Wahrscheinlichkeit abhängig ist, mit der die größeren Teilchen zur Adsorption an den Wänden neigen. Diesen Effekt kann durch die attraktiven Kräfte erklärt werden, die proportional mit dem Partikelradius anwachsen <sup>6.8, 6.9</sup>.

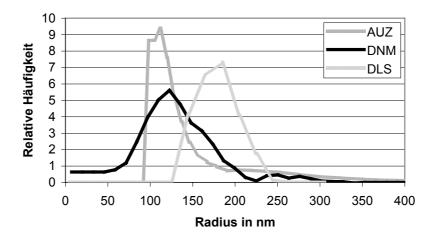
Zusätzlich zu den erfolgreichen Erprobungen an Polystyrolpartikeln soll ein Vergleich zu den Messmethoden der Dynamischen Lichtstreuung (DLS) und der Analytischen Ultrazentrifugation (AUZ) zeigen, dass die DNM-Methode auch Radienverteilungen in Nanokapseldispersionen mit akzeptablen Resultaten misst. In Abbildung 6.6 sind die gemessenen, flächennormierten Radienverteilungen der drei Methoden dargestellt.



**Abb. 6.5:** DNM-Messung: Bimodale Radienverteilung einer Mischung aus  $120 \pm 3$  nm und  $202 \pm 2$  nm großen Partikeln.

Tabelle 6.5: Ergebnisse der Messung der bimodalen Verteilung:

Messergebnis Partikelradien (Zahlenmittel)	Partikelradien	Gemessenes Partikelverhältnis	Eingewogenes Partikelverhältnis
118,0 ± 15 nm	120,0 ± 3 nm	1,8	1,6
197,0 ± 13 nm	202,0 ± 2 nm	1	1



**Abb. 6.6:** Vergleich der flächennormierten Radienverteilungen einer Nanokapseldispersion, gemessen mit DNM, AUZ und DLS. Alle Häufigkeiten wurden zahlengewichtet berechnet.

Die beiden Verteilungsgraphen der DNM- und AUZ-Messungen zeigen annähernde Übereinstimmungen sowohl in der Position ihrer Maxima als auch im

Verlauf der Kurven bei größeren Radien. In den Breiten der Verteilungen treten kleine Unterschiede auf. Davon abgesehen detektieren beide eine relativ schmale Größenverteilung, verbunden mit einem steilen Anstieg bei etwa 80 bis 100 nm. Die DLS-Messung liefert eine Verteilung, die scheinbar zu größeren Radien verschoben ist, dessen Gewichtsmittel aber relativ gut mit den gemessenen Werten der anderen Methoden übereinstimmt (siehe Tabelle 6.4). Besonders auffällig ist das Nebenmaximum bei rund 250 nm, das nur in den Verteilungskurven der AUZ- und der DNM-Messungen auftritt. Die Form der beiden Verteilungen mit den unregelmäßigen Übergängen zwischen Haupt- und Nebenmaxima lässt darauf schließen, dass hier möglicherweise zwei eng benachbarte Radienverteilungen vorliegen. Bei Beobachtungen mit dem Dunkelfeldmikroskop können gelegentlich unsymmetrische Partikel in Nanokapseldispersionen beobachtet werden, bei denen es sich um agglomerierte Kapseln handeln kann. Wie Stabilitätsstudien in den nachfolgenden Kapiteln noch belegen werden, finden in den Nanokapseldispersionen keine Agglomerationen statt, was den Schluss zulässt, dass die Agglomerate bei der Synthese entstanden sein müssen (siehe Kapitel 6.6).

**Tabelle 6.6:** Vergleich der Radienverteilungen der AUZ-, DNM- und DLS-Messungen:

	AUZ	DNM	DLS
Zahlenmittel (ZM) *1 157 nm		140 nm	179 nm
Gewichtsmittel (GM) *2	208 nm	187 nm	189 nm
Polydispersität (Po) *3 1,32		1,34	1,06
Halbwertsbreite 36 nm		64 nm	67 nm

\*1 ZM =  $\sum_{i} N_{i} \cdot R_{i} / \sum_{i} N_{i}$ ; \*2 GM =  $\sum_{i} V_{i} \cdot \rho \cdot N_{i} \cdot R_{i} / \sum_{i} V_{i} \cdot N_{i}$ ; \*3 Po = GM/ZM

mit  $N_i$  Anzahl,  $V_i$  Volumen,  $R_i$  Radius der Teilchen i,  $\rho$  Dichte von Miglyol $^{\text{@}}$  812 N

Insofern reiht sich die DNM-Methode mit ihrer Messgenauigkeit an Nano-kapseldispersionen unter den beiden anderen Verfahren ein. Einer der Vorteile der neuen Methode gegenüber der DLS und der AUZ liegt in der sehr einfachen Probenvorbereitung. Dazu wird die Probe soweit verdünnt, bis ihre Partikel-konzentration die Beobachtung einzelner Partikel ermöglicht und die Anzahl an Kollisionen gering ist. Hier zählen lediglich Erfahrungswerte, wobei genaue Konzen-

trationsangaben im Gegensatz zu den anderen Methoden nicht benötigt werden. Ein weiterer Vorteil ist die kurze Messzeit von etwa acht Sekunden, nach der die Radien von bis zu 20 Teilchen gleichzeitig bestimmt werden können. Wiederholt man solche Messungen kurz hintereinander, so bietet sich nicht nur die Möglichkeit, die statistische Sicherheit der Verteilungen durch die Messungen einer größeren Anzahl von Partikeln zu verbessern, vielmehr können auch Systemveränderungen wie das Partikelwachstum oder die Agglomeration beobachtet werden. Hierzu wurden erste erfolgversprechende Versuche in Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung in Potsdam mit langsam wachsenden, in Wasser dispergierten CaCO<sub>3</sub>-Partikel durchgeführt, die im Minutenabstand gemessen wurden. Diese messtechnische Verfolgung des individuellen Partikelwachstum ist bislang mit keiner anderen Methode in derart kurzen Zeitabständen möglich und dabei noch erwiesenermaßen zuverlässig.

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass die DNM-Methode verlässlich und mit guter Genauigkeit Radienverteilungen im Bereich von 50 bis 202 nm erfasst und auch bimodale Verteilungen in guter Übereinstimmung mit erwarteten Werten wiedergibt. Es kann angenommen werden, dass auch größere Partikel mit der gleichen Sicherheit gemessen werden können. Unterhalb von 50 nm wird die Methode zunehmend unempfindlicher, da das von den Partikeln gestreute Licht immer stärker an Intensität verliert. Wo letztlich die Detektionsgrenze liegt, kann hier nur geschätzt werden. Unter 10 nm werden erfahrungsgemäß keine Teilchen mehr sichtbar sein.

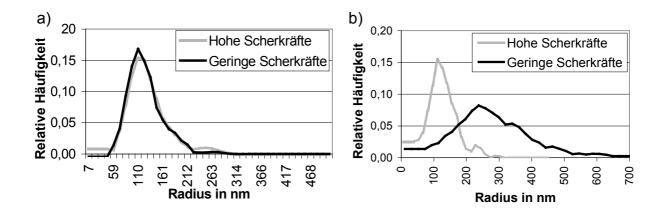
# 6.3 Steuerung von Größenverteilungen und Wandstärken von Nanokapseln durch Synthesevariationen

Die Größen von Nanokapseln und ihre Wandstärken lassen sich mit Hilfe verschiedenster Syntheseparameter variieren (sie Kapitel 2.2.1). Es ist bekannt, dass eine Veränderung des Öl-Ethanol-Verhältnisses Einfluss auf die Kapselgrößen ausübt <sup>6.2</sup>, <sup>6.10</sup>, <sup>6.11</sup>. Der Monomeranteil in der organischen Phase reguliert die Wandstärke <sup>6.11</sup>. In diesem Kapitel wird erstmals der Einfluss des Öl-Ethanol-Verhältnisses auf die Nanokapselradien unter Anwendung starker Scherkräfte durch den disper-

gierenden Rührer untersucht. Parallel werden die Größenverteilungen verglichen, die unter der Verwendung verschiedener Rührersysteme, hier *Overhead*-Rührer mit Rührblättern und Magnetrührer mit Rührkern, entstehen. Außerdem werden die bislang unbekannten Auswirkungen unterschiedlicher pH-Werte der organischen Phase auf die Ausbildung und den Aufbau der Polymerwände der Nanokapseln erörtert.

#### 6.3.1 Der Einfluss von Scherkräften

Bei der Nanokapselsynthese wird die organische Phase, die das Öl enthält, unter Rühren in die wässrige Phase injiziert. Am Injektionsort treten, durch die Rührerblätter verursacht, starke Scherkräfte auf <sup>6.12</sup>. Diese dispergieren die organischen Komponenten in der wässrigen Phase. Zur Untersuchung des Scherkräfteeinflusses auf die entstehenden Nanokapselradienverteilungen wurden mit zwei verschiedenen Rührsystemen jeweils zwei Synthesen mit unterschiedlichen Rührergeschwindigkeiten durchgeführt. Die Injektionsraten wurde dabei konstant gehalten.



**Abb. 6.7:** DNM-Messungen: Vergleich der flächennormierten Radienverteilungen von Nanokapseldispersionen, die unter verschiedenen Rührerscherkräften hergestellt wurden: a) Overhead-Rührer mit Rührblättern, b) Magnetrührer mit Rührkern.

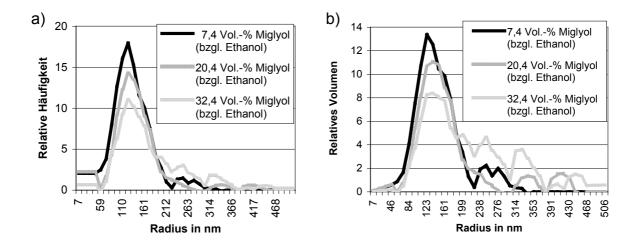
Die beiden Verteilungen der Synthese mit dem *Overhead*-Rührer zeigen keine signifikanten Unterschiede (siehe Abbildung 6.7 a). Die hier verwendeten Rührblätter und die erzeugten Scherkräfte sind bei beiden gewählten Umdrehungsgeschwindigkeiten vermutlich so groß, dass sie nur die Entstehung kleinstmöglicher Kapseln ermöglichen. Der Magnetrührer kann hingegen bei niedrigerer Umdrehungszahl des

Rührkerns den Einfluss der Scherkräfte verringern, so dass dabei größere Nanokapseln gebildet werden können (siehe Abbildung 6.7 b).

Dabei fällt hier besonders auf, dass alle Verteilungen der Synthesen, bei denen hohe Scherkräfte verwendet wurden, einen besonders steilen und einheitlichen Kurvenverlauf bei rund 80 nm zeigen. Die Herstellung kleinerer Nanokapseln scheint mit den gewählten Syntheseparametern nicht möglich. Mit anderen Worten, die über die Scherkräfte des Rührers eingetragene Energie vermag es nicht, die Oberfläche zwischen wässriger und organischer Phase über einen gewissen Wert hinaus zu vergrößern. Der Vergleich mit ähnlichen Emulsionen von niedermolekulareren lipophilen Molekülen, die mit Tropfenradien von bis zu 25 nm hergestellt werden können <sup>6.13</sup>, lässt vermuten, dass auch die Ölkomponente der Nanokapseln zu kleineren Tropfen dispergierbar sein sollte. Hier scheint die Struktur der Kapsel mit ihrer Polymerschicht der limitierende Faktor zu sein. Höhere Scherkräfte werden vermutlich anstelle der Bildung von Nanokapseln die Bildung von Nanosphären fördern. Diese Annahme deckt sich mit den Beobachtungen von M. Gallardo et al., die bei ihren Messungen neben Nanokapseln mit Radien von 115 nm auch Nanosphären mit kleineren Radien beobachten konnten <sup>6.10</sup>.

#### 6.3.2 Einfluss der Ölkonzentration

Im Anschluss an die vorangegangenen Experimente werden die Einflüsse variierender Ölanteile in der organischen Phase auf die Entstehung der Radienverteilungen untersucht. Bei den Synthesen wurden durch die Verwendung des *Overhead*-Rührwerks starke Scherkräfte eingesetzt, um besonders deren Einfluss bei den Variationen zu messen. Dabei wird erwartet, dass mit steigendem Ölanteil größere Radien resultieren <sup>6.2, 6.10, 6.11</sup>. Abbildung 6.8 zeigt die vermehrte Entstehung größerer Nanokapseln bei höheren Ölkonzentrationen, was sich mit den Beobachtungen aus der Literatur deckt. In Tabelle 6.7 werden die Werte des Zahlen- und des Gewichtsmittels sowie die Polydispersitäten der drei Radienverteilungen angegeben. Vergleicht man abschließend die gefundenen Zahlenmittel der Radien bei den verschiedenen Ölanteilen mit Ergebnissen aus der Literatur <sup>6.2, 6.10, 6.11</sup>, so stellt man fest, dass die Abhängigkeit der Kapselgrößen von der Ölmenge hier sehr schwach ausgeprägt ist (siehe Abbildung 6.9).

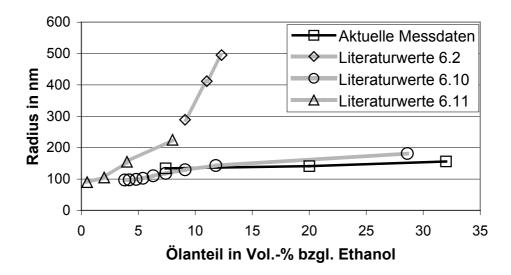


**Abb. 6.8:** DNM-Messungen: Vergleich der flächennormierten Radienverteilungen von Nanokapseldispersionen, die mit drei verschiedenen Ölanteilen hergestellt wurden: a) zahlengewichtete Häufigkeit, b) volumengewichtete Häufigkeit.

**Tabelle 6.7:** Ergebnisse der DNM-Messungen an Nanokapseldispersionen nach Synthesen mit unterschiedlichen Ölanteilen:

	7,4 Vol% Öl (bzgl. Ethanol)	19,4 Vol% Öl (bzgl. Ethanol)	32,4 Vol% Öl (bzgl. Ethanol)
Zahlenmittel *1	134 nm	141 nm	156 nm
Gewichtsmittel *1	150 nm	167 nm	195 nm
Polydispersität *1	1,12	1,18	1,25

<sup>\*1</sup> siehe Fußnote Tabelle 6.6



**Abb. 6.9:** Vergleich von Literaturdaten mit der hier gefundenen Abhängigkeit des Kapselradius vom Ölanteil in der organischen Phase.

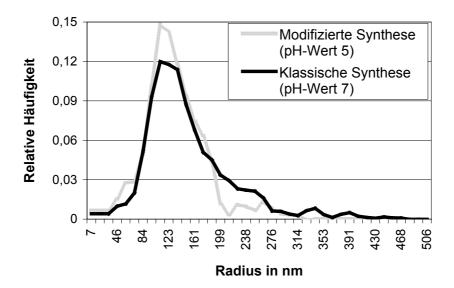
Die Abbildung 6.9 zeigt, dass bei den drei Beispielen aus der Literatur die Kapselradien durch Synthesen mit unterschiedlichen Ölanteilen deutlich stärker beeinflusst werden, was sich durch die größeren Steigungen in ihren Kurven darstellt. Es ist anzunehmen, dass im Vergleich zu dem hier verwendeten Rührwerk die Scherkräfte bei den Synthesen in der Literatur deutlich schwächer waren. Aus den Veröffentlichungen lassen sich leider keine Vergleichswerte zu den Scherkräften herleiten. Eine Gemeinsamkeit zeigt sich aber darin, dass alle Verläufe nahezu linear sind. Der Radius der Nanokapseln steigt demnach etwa linear mit einem steigendem Ölanteil in der organischen Phase an.

Als Fazit bezüglich der Reproduzierbarkeit von Nanokapselsynthesen muss geschlossen werden, dass jeder Versuchsaufbau, in Abhängigkeit von den verwendeten Rührwerken und Scherkräften, zu anderen Radienverteilungen führt. Lediglich der Trend, dass mit steigendem Ölanteil größere Kapseln entstehen, ist bei jeder Synthese gültig. In Hinsicht auf die Anwendung von Nanokapseln als *Drug-Carrier* sollten folglich die Apparaturen für die Synthese sehr stabil aufgebaut sein, um schwankende Wirkstoffkonzentrationen aufgrund nicht reproduzierbarer Größenverteilungen zu vermeiden. Alternativ bietet es sich an, die Synthesen kontinuierlich mit hohen Scherkräften durchzuführen, was jedoch die Möglichkeiten der Einstellung verschiedener Radienverteilungen über Parameter wie die Ölmenge einschränkt.

#### 6.3.3 Wandstärke in Abhängigkeit vom pH-Wert der organischen Phase

Anionische Polymerisationsreaktionen wie die hier wandbildende Umsetzung von n-Butylcyanoacrylat werden durch den pH-Wert des Lösemittelmediums beeinflusst <sup>6.14</sup>. Im Falle der Nanokapselsynthesen stellt sich deshalb die Frage, welchen Einfluß das Absenken des pH-Werts in der organische Phase auf die Struktur der Kapselwände nimmt.

Zur Analyse der Wirkung der pH-Wert-Absenkung auf Größenverteilungen wurden zwei Dispersionen nach dem klassischen <sup>6.10</sup> (pH-Wert 7) und dem modifizierten <sup>6.2</sup> Syntheseverfahren (pH-Wert 5) hergestellt und mittels der DNM-Methode gemessen. Die beiden Histogramme sind als Graphen in Abbildung 6.10 dargestellt.



**Abb. 6.10:** DNM-Messungen: Vergleich der flächennormierten Nanokapselgrößenverteilungen bei der klassischen Synthese mit der der modifizierten Synthese.

Der Vergleich der Größenverteilungen zeigt, dass nur geringe Unterschiede in den Formen beider Histogramme auftreten. Beide besitzen einen steilen Anstieg der Radien ab rund 80 nm und ein Maximum bei etwa 120 nm Radius. Oberhalb von 300 nm werden nur noch wenige Partikel beobachtet. Kleinere Abweichungen sind in der Form der Spitzen der Verteilungen und bei ihren rechten auslaufenden Flanken zu finden. Im Ganzen fallen die Unterschiede relativ klein aus. Dies wird auch in Tabelle 6.8 belegt, welche zeigt, dass die Zahlen- und Gewichtsmittelwerte nur gering differieren.

**Tabelle 6.8:** Vergleich der Radienverteilungen von Nanokapseln nach klassischer und modifizierter Synthese:

and meaniferer cynamics.			
	Modifizierte Synthese (pH-Wert 5)	Klassische Synthese (pH-Wert 7)	
Zahlenmittel *1	132 nm	152 nm	
Gewichtsmittel *1	186 nm	257 nm	
Polydispersität *1	1,41	1,69	

siehe Fußnote Tabelle 6.6

Die Frage zum Einfluss der unterschiedlichen pH-Werte auf die Wandstärken wird hier mit Hilfe der AUZ und dessen Dichtegradientenverfahren untersucht <sup>6.2</sup>. Für

diese Messungen müssen die chemischen Zusammensetzungen der Wände und des Kapselinhalts bekannt sein. Die Auswertung der gemessenen mittleren Kapseldichten  $\rho_{total}$  zur Berechnung der Wandstärke wird mit folgender Gleichung durchgeführt:

$$\frac{1}{\rho_{\text{total}}} = \frac{P_{\text{Polymer}}}{\rho_{\text{Polymer}}} + \frac{P_{\text{Miglyol}}}{\rho_{\text{Miglyol}}} \qquad . \tag{6.1}$$

Für die Dichte  $\rho_{\text{Ol}}$  des reinen Öls Miglyol<sup>®</sup> 812 N wurde ein Wert von 0,9417 g/ml gemessen, die Dichte  $\rho_{\text{Polymer}}$  des Polymers Poly-n-butylcyanoacrylat beträgt 1,150 g/ml. Der  $\rho_{\text{Polymer}}$ -Wert wurde als Mittelwert aus zwei Dichtemessungen berechnet, wobei das Polymer in Wasser dispergiert und zusätzlich in Tetrahydrofuran (THF) gelöst wurde. Dabei erhielt man für  $\rho_{\text{Polymer}}$  in Wasser 1,142 g/ml und 1,158 g/ml in THF. Der oben angegebene Wert ist der Mittelwert aus diesen beiden Dichten. Die Massenanteile  $P_{\text{Polymer}}$  und  $P_{\text{Ol}}$  sind die hier gesuchten Größen.

Bei der modifizierten Synthese erhält man aus der Dichtegradientenmessung Kapseldichten  $\rho_{total}$  von 0,954 g/ml, die klassische Synthese ergab eine Kapseldichte  $\rho_{total}$  von 0,958 g/ml. Aus Gleichung 6.1 ergibt sich für den Massenanteil  $P_{Polymer}$  der Kapselwand:

$$P_{\text{Polymer}} = \left(\frac{1}{\rho_{\text{total}}} - \frac{1}{\rho_{\text{Miglyol}}}\right) / \left(\frac{1}{\rho_{\text{Polymer}}} - \frac{1}{\rho_{\text{Miglyol}}}\right) . \tag{6.2}$$

Der Massenanteil des Polymers der modifiziert hergestellten Nanokapseln beträgt 0,071, für die Kapseln der Synthese mit der neutralen Phase 0,091. Die Berechnung der Wandstärke d wird mit folgender Gleichung durchgeführt, die mit Hilfe einfacher geometrischer Betrachtung aufgestellt werden kann:

$$d = R_H \left( 1 - \sqrt[3]{1 - P_{Polymer}} \right) . \tag{6.3}$$

Aus diesen Daten wurden unter der Annahme, dass bei beiden Synthesen gleich große Nanokapseln mit einem Radius  $R_H$  = 100 nm entstehen, Wandstärken von 2,3 nm für die modifiziert und 3,1 nm für die klassisch hergestellten Nanokapseln

berechnet <sup>6,2</sup>. Wie erstmalig die neuen Messungen mit der DNM-Methode zeigen, beobachtet man nach beiden Synthesewegen unterschiedlich große Kapseln. Legt man die gewichtsgemittelten Radienwerte der Messergebnisse den Berechnungen zugrunde, so erhält man folgende Wandstärken:

Klassische Synthese (pH-Wert 7): 8,0 nm, Modifizierte Synthese (pH-Wert 5): 4,5 nm.

Die Wände der Nanokapseln nach der klassischen Synthese sind rund 78 % dicker als die nach der modifizierten Synthese. Dieser Trend fällt mit der Beobachtung zusammen, dass auch die Molmassen der Wandpolymere bei der modifizierten Synthese mit nur 8000 - 10000 g/mol deutlich unter denen der klassischen Synthese mit rund 84000 g/mol liegen <sup>6.15</sup>. Zum Vergleich werden in der Literatur für klassisch hergestellte Nanokapseln Wandstärken von 3 bis 5 nm angegeben <sup>6.1, 6.16</sup>. Dort wurden die Wände mit Hilfe der Transmissionselektronenmikroskopie gemessen. Der Wert aus den AUZ-Messungen liegt im Bereich dieser Literaturwerte, was auch belegt, dass die Methode sehr gut zur Wandanalyse geeignet ist.

Bei alle obigen Beobachtungen wird deutlich, dass aufgrund des niedrigeren pH-Werts und der damit höheren  $H_3O^+$ -Konzentration der organischen Phase bei der modifizierten Synthese der Kettenabbruch der Polymerisation bei wesentlich niedrigeren Molmassen erfolgt <sup>6.14, 6.17-6.20</sup>.

# 6.4 Der Reifungsprozess bei Nanokapseln im Vergleich zu Emulsionströpfchen

Alterungsprozesse vermindern die Haltbarkeit von Dispersionen. Die pharmazeutischen Möglichkeiten von Nanokapseln z.B. als Trägermaterialien hängen neben den Freisetzungseigenschaften auch von der Stabilität der Dispersionen ab. Größere Agglomerate von Nanokapseln können die biologische Verträglichkeit herabsetzen 6.21. An dieser Stelle soll geklärt werden, ob Nanokapseldispersionen altern und dabei zum Beispiel Agglomerationvorgänge stattfinden. Neben Agglomeration ist auch die Koaleszenz und die Ostwaldsche Reifung von Nanokapseln denkbar. Prinzipiell allerdings muss für die beiden letzteren Prozesse die Polymerwand für die

stattfindende Fusion bzw. Größenänderung der Öltröpfchen geöffnet bzw. zerstört werden. Abbildung 6.11 a) zeigt die Größenverteilungen von Nanokapseln (modifizierte Synthese) gemessen nach 4 Stunden und 31 Tagen nach der Synthese. Die beiden Verteilungen zeigen nur geringe Unterschiede, was den Rückschluss ermöglicht, dass keine Alterungsvorgänge bezüglich der Kapselgrößen stattfinden.

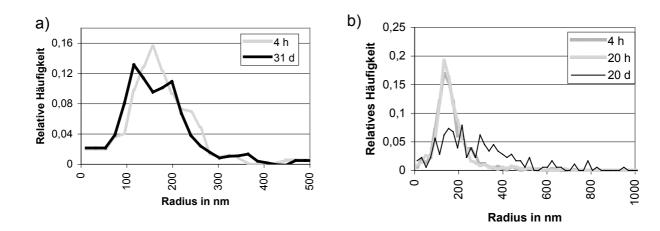


Abb. 6.11: DNM-Messungen: Flächennormierte Größenverteilungen der Alterungsversuche: a) Nanokapseln nach 4 Stunden bzw. nach 31 Tagen, b) Emulsionströpfchen nach 4 und 20 Stunden sowie 20 Tagen Lagerung.

Im Vergleich findet man in einer Emulsion nach längeren Lagerungszeiten zunehmend mehr große Tropfen. Vergleicht man das unterschiedliche Alterungsverhalten von Emulsionen und Kapseln, so kann nur die Anwesenheit eines besonderen Widerstands in der Grenzfläche zwischen Öl und Wasser erklären, warum Nanokapseln stabil sind. Dies ist ein weiterer signifikanter Nachweis der Existenz der Polymerwände, der die in der Literatur beschriebenen Hinweise unterstützt <sup>6.1, 6.16, 6.22, 6.23</sup>

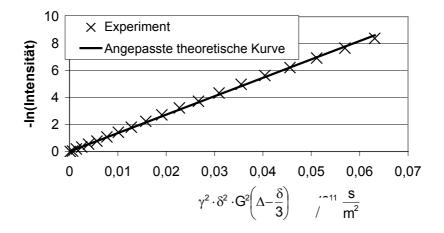
Zur weiteren Erörterung der geringen Stabilität von Emulsionen lohnt sich der Vergleich mit den aus der Literatur bekannten Miniemulsionen. Sie werden gewöhnlich mit Hilfe von Ultraschalldispergatoren aus einer Öl-in-Wasser Emulsion mit einem Emulgator und einem hydrophoben Zusatzagens hergestellt, wobei Radien zwischen 25 bis 250 nm entstehen <sup>6.24, 6.25</sup>. Diese Emulsionen sind über Zeiträume von Monaten stabil <sup>6.8</sup>, wobei man ihren Zustand als "kritisch stabilisiert" bezeichnet. In diesem Zustand ist zwar die Koagulation zweier Tropfen möglich, aber eine Ostwaldsche Reifung findet nicht statt <sup>6.13</sup>. Die Stabilität wird durch einen osmotischen Effekt erklärt, der durch das Zusatzagens erzeugt wird. Dieser gewöhnlich langkettige Alko-

hol löst sich nahezu vollständig im Öl der Miniemulsion. Würde das Öl für den Prozess der Ostwaldschen Reifung aus den Tropfen austreten, so würde die Konzentration des gelösten Alkohols ansteigen und der osmotische Druck des Tropfens größer werden. Die umgebenden Öltropfen gleichen deshalb den Ölverlust durch einen Austausch von Ölmolekülen wieder aus.

Die hier hergestellte Emulsion ist dementgegen, wie die DNM-Messungen zeigen, gegen Ostwaldsche Reifung nicht stabil. Der Grund dafür ist das in der Emulsion enthaltene Ethanol, das für die Herstellung der nanometergroßen Tropfen benötigt wird <sup>6.10</sup>. Wie noch gezeigt wird, belegen die PFG-NMR-Messungen, dass man es anschließend hauptsächlich in der wässrigen und nur in geringen Anteilen in der organischen Phase wiederfindet (siehe Kapitel 6.8). Dort in nur niedriger Konzentration vorhanden, kann es die Öltröpfchen nur gering durch den osmotischen Effekt stabilisieren. Dafür erhöht es die Löslichkeit der Ölmoleküle in der wässrigen Phase und beschleunigt auf diese Weise den Prozess der Ostwaldschen Reifung.

### 6.5 Die wässrige Umgebung

In Nanokapseldispersionen ist das Wasser die in größter Menge vertretene Verbindung. Bei der Untersuchung des Diffusionsverhaltens ist zu erwarten, dass der Hauptanteil des Wassers ungehindert in der Umgebung außerhalb der Nanokapseln diffundiert. In Abbildung 6.12 wird der gemessene Echozerfall der Resonanzlinie bei 4,8 ppm dargestellt. Die Auftragung der Achsen ist so gewählt, dass anhand der Steigung der Geraden direkt der Diffusionskoeffizient abgelesen werden kann. Dabei wurde die Gleichung 4.17 für den Echozerfall bei freier Diffusion bei der Achsenbeschriftung verwendet. Beobachtet man bei einem Signalabbau eine freie Diffusion, so muss dies in dieser Form der Darstellung zu einer Geraden mit dem zugehörigen Diffusionskoeffizienten führen. Die angepasste theoretische Gerade wurde auf Grundlage der Gleichung 4.17 mit Hilfe der Methode der kleinsten Fehlerquadrate berechnet. Der gemessene Diffusionskoeffizient der Resonanzlinie beträgt  $1,37\cdot10^{-9} \pm 7\cdot10^{-12}$  m²/s. Vergleicht man diesen Wert mit dem Koeffizienten  $2,3\cdot10^{-9}$  m²/s von reinem Wasser  $^{6.26}$ , so sind die hier beobachteten Moleküle auffällig unbeweglicher. Die Ursache dafür ist der 20 %ige Ethanolanteil in dieser Phase. Löst



**Abb. 6.12:** PFG-NMR-Messung: Echozerfall von Wasser in einer Nanokapseldispersionen.

man Wasser mit niedriger Konzentration in Ethanol, so mißt man einen Diffusions-koeffizienten von 1,24 · 10<sup>-9</sup> m²/s <sup>6.27</sup>. Der hier gefundene Wert liegt zwischen den beiden Koeffizienten aus der Literatur. Wie schon bei den Zuordnungen der einzelnen Resonanzlinien gezeigt wurde (siehe Abschnitt 6.2.1), wird auch die OH-Gruppe des Ethanols zusammen mit dem Wassersignal bei 4,8 ppm beobachtet. Ethanol besitzt in Wasser einen Diffusionskoeffizienten von 1,24·10<sup>-9</sup> m²/s <sup>6.27</sup>, was darauf schließen lässt, dass der Signalzerfall teilweise auch durch frei diffundierendes Ethanol erzeugt wird.

#### 6.6 Die Dynamik der Tensidmoleküle

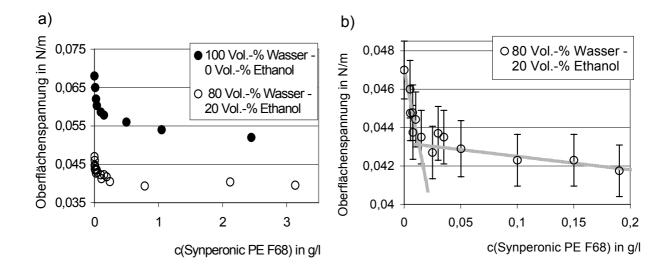
Tenside werden in Nanopartikeldispersionen zur deren Stabilisierung eingesetzt. Durch ihre amphiphilen Eigenschaften sammeln sie sich in der Grenzschicht zwischen den Nanokapseln und der wässrigen Umgebung an und setzen dadurch die Oberflächenenergie der Phasengrenze herab. Auf ähnliche Weise sind die Tensidmoleküle vermutlich auch an den beiden vermuteten Entstehungsprozessen <sup>6.1, 6.10</sup> von Nanokapseln beteiligt. Oberhalb eines charakteristischen Konzentrationswertes, der kritischen Mizellbildungskonzentration (engl. Abk. cmc), beobachtet man neben den oberflächlich adsorbierten Molekülen die Bildung von Mizellen durch die Zusammenlagerung einzelner Tensidmoleküle.

Im weiteren Verlauf wird folgenden Fragestellungen nachgegangen: 1. Ist bei den in Nanokapselsynthesen verwendeten Tensidkonzentrationen die cmc überschritten? 2.

Welchen Einfluss hat die Anwesenheit von Nanokapseloberflächen auf das Mizellbildungsverhalten? 3. Wie groß sind die Mizellen und können sie bei der Messungen mit der DNM-Methode die Ergebnisse beeinflussen? 4. Wie stabilisieren die Tensidmoleküle die Dispersion?

Zur Aufklärung des obigen Fragenkomplexes wurde die Blasendruckmethode für die Bestimmung der cmc und die PFG-NMR-Methode zur Messung von Diffusionskonstanten verwendet.

Zunächst wurde die cmc des Tensids Synperonic<sup>®</sup> F68 PE in einer Mischung aus 80 Vol.-% Wasser und 20 Vol.-% Ethanol bestimmt. Damit wird das gleiche Ethanol/Wasser-Verhältnis verwendet, das auch in den verschiedenen Nanokapsel-dispersionen in der wässrigen Phase enthalten ist. In Abbildung 6.13 wird der gemessene Verlauf der Oberflächenspannung in Abhängigkeit von der Tensidkonzentration in der Wasser/Ethanol-Lösung mit dem Verlauf einer Messung aus der Literatur verglichen, bei dem das Tensid in reinem Wasser gelöst wurde <sup>6.28</sup>.



**Abb. 6.13:** Messung der Oberflächenspannung mit Hilfe der Blasendruckmethode: a) Konzentrationsabhängigkeit der Oberflächenspannung von Tensid in Wasser im Vergleich zu einer Wasser-Ethanol-Mischung, b) Vergrößerter Ausschnitt des Verlaufs der 80 Vol.-% - 20 Vol.-% Kurve. Der Schnittpunkt der Geraden ergibt die cmc.

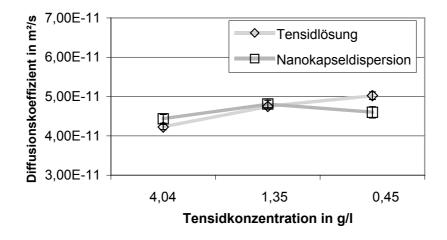
D. Hoffmann fand im rein wässrigen System einen cmc-Wert von 0,05 g/l  $^{6.28}$ . Hier wird beobachtet, dass durch die Zugabe des Ethanols die cmc auf 0,013 g/l absinkt. Dieses Verhalten ist allgemein bekannt und wird durch die Verringerung des chemischen Potentials  $\mu^{\circ}_{M}$  der Tensidmoleküle in den Mizellen aufgrund ihrer Wechsel-

wirkung mit wasserlöslichen Verbindungen erklärt  $^{6.24, 6.29, 6.30}$ . In dem hier vorgestellten Fall kann angenommen werden, dass Ethanol in die Mizellen eintritt und dadurch das chemische Potential durch eine innere stabilisierende Wechselwirkung senkt. Aus thermodynamischer Sicht wird dieses Phänomen durch eine Verringerung der freien Standardbildungsenthalpie der Mizellen  $\Delta G^{\circ}_{M}$  erklärt. Näherungsweise gilt für große Aggregate  $^{6.24}$ :

$$\Delta G_{M}^{\circ} = \mu_{M}^{\circ} - \mu_{W}^{\circ} = R \cdot T \cdot \ln (cmc) . \qquad (6.4)$$

Das Lösen von Ethanol in einer wässrigen Tensidlösung senkt das chemische Potential  $\mu^{\circ}_{W}$  der gelösten Tensidmoleküle in geringerem Maße als das chemische Potential der mizellar gebundenen Moleküle. Insgesamt wird  $\Delta G^{\circ}_{M}$  kleiner und damit sinkt auch die cmc, wie die Gleichung zeigt.

Zur Messung des Einflusses von Nanokapseln auf die cmc bzw. die Beweglichkeit von Tensidmolekülen wurde eine Tensid in Wasser/Ethanol-Lösung hergestellt, die die gleichen Anteile der drei Komponenten wie eine Nanokapseldipersion besitzt. Die Tensidlösung ist quasi eine Dispersion aus der man die Nanokapseln entfernt hat. Für die PFG-NMR-Messungen von Tensiddiffusionskoeffizienten wurden von beiden Systemen je eine Verdünnungsreihe verwendet (siehe Abbildung 6.14). Die Verdünnung erfolgte dabei mit einer Wasser/Ethanol-Mischung, wie sie auch in der Originallösung vorliegt.



**Abb. 6.14:** Vergleich der Konzentrationsabhängigkeiten des Diffusionskoeffizienten des Tensids einer Tensidlösung und einer Nanokapseldispersion nach der modifizierten Synthese.

Die Messungen belegen, dass die Diffusionskoeffizienten des Tensids sowohl über den gesamten Verdünnungsbereich nahezu konstant sind, als auch durch die Anwesenheit von Nanokapseln nicht beeinflusst werden. Erwartungsgemäß würde eine langzeitige Adsorption oder ein mehrmaliger Kontakt mit jeweils kurzen Aufenthaltszeiten von Tensidmolekülen auf den Nanokapseloberflächen in Form einer Abnahme des Tensiddiffusionskoeffizienten detektierbar sein 6.31, 6.36. Zur Erläuterung dieses Effekts muss man zwischen zwei Bewegungsmoden unterscheiden: a) Während des Aufenthalts auf den Kapseln diffundieren die Tensidmoleküle mit dem Diffusionskoeffzienten der Kapseln; b) Nach der Ablösung erfolgt die Diffusion mit dem wesentlich größeren Koeffizienten der freien Tensidbewegung im wässrigen Medium. Die PFG-Messung wird dann eine Beweglichkeit detektieren, die sich aus der Vermischung der beiden Bewegungen ergibt und ein gemittelter Koeffizient wird resultieren. Der Wechsel zwischen den beiden Moden muss notwendigerweise dabei mehrmals innerhalb der Beobachtungszeit auftreten.

Zur Klärung des Austauschverhaltens des Tensids zeigten andere NMR-Untersuchungen, dass bei n-Butylcyanoacrylat-Nanokapseln Kontaktzeiten von rund 0,5 bis 1 ms für das Tensid Synperonic<sup>®</sup> PE / F68 auf den Kapseloberflächen auftreten <sup>6,28</sup>. An gleicher Stelle konnte weiterhin nachgewiesen werden, dass es keinen Anteil langzeitlich (>> 1 ms) auf den Kapseloberflächen adsorbierten Tensids gibt.

Bei PFG-NMR-Untersuchungen von Adsorptionsphänomenen von nichtionischem Dodecylpentaethylenoxid auf Polystyrolpartikeln fand man Kontaktzeiten von 13,3 ms <sup>6.31</sup>. Diese Ergebnisse belegen, dass solche Vorgänge in dem hier verwendeten experimentellen Beobachtungsfenster von 25 ms Diffusionszeit stattfinden. Mit 0,5 bis 1 ms Kontaktzeit ist für die Messung eines Effektes erforderlich, dass der Kontakt innerhalb des Zeitfensters mehrmals für jedes freie Tensidmolekül stattfindet. Dies ist bei den Nanokapseldispersionen hier anscheinend nicht der Fall, da die Diffusionskoeffizienten der unverdünnten Tensidlösung sich nicht signifikant von der unverdünnten Dispersion unterscheiden. Der Anteil austauschender Tensidmoleküle muss sehr gering sein.

Die Messung unterschiedlich konzentrierter Dispersionen sollte zeigen, inwieweit sich bei niedrigeren Tensidkonzentrationen der Anteil adsorbierten Tensids verändert. Hier ist zumindest zu erwarten, dass mit abnehmender Konzentration die Menge an adsorbiertem Tensid abnimmt. Da aber schon bei hohen Konzentrationen

kein Anteil dieser Moleküle detektiert werden kann, ist es auch erklärlich, warum dies bei niedrigeren Konzentrationen erst recht nicht möglich ist (siehe Abbildung 6.14). Nun stellt sich die Frage, ob sich das Tensid überhaupt an Kapselwänden anlagert oder ob hier dieser Anteil unterhalb der Detektionsgrenze der PFG-NMR-Methode liegt. Nach Literaturangaben findet unterhalb einer gewissen Tensidkonzentration bei der Synthese entweder die Agglomeration der Nanokapseln statt, oder die Bildung der Kapseln unterbleibt <sup>6.1, 6.11</sup>. Mit steigendem Tensidanteil wird dagegen eine zunehmende Besetzung auf der Oberfläche beobachtet. Insofern scheint es nachgewiesen zu sein, dass adsorbiertes Tensid existiert. Folglich ist die PFG-NMR-Methode nicht empfindlich genug, um den anscheinend sehr geringen Anteil kurzzeitig adsorbierten Tensids zu erfassen.

Nachfolgend wird nun die Detektionsgrenze der Methode ermittelt, um daraus den maximalen Anteil der gebundenen Moleküle abschätzen zu können.

Die gesamte Aufenthaltsdauer eines Moleküls während der Diffusionszeit  $\Delta$  an den Kapselwänden kann über die Anzahl seiner Kontakte  $N_{Kontakt}$  berechnet werden, wenn die Kontaktzeiten  $\Delta_{Kontakt}$  wie in diesem Fall bekannt sind. Dazu trifft man die Annahme, dass die Bewegungen der Moleküle in der Dispersion mit den Bewegungen in einer wandkontaktfreien Lösung vergleichbar sind und lediglich sich die Diffusionszeit um die Dauer der Kontakte verkürzt. Demnach kann man zwei Terme aus der Einstein-Smoluchowski Gleichung (3.19) aufstellen: Einen für die Tensidbewegung in der Dispersion (mit  $D_{Dispersion}$ ) und einen zweiten für die Bewegung in einer Lösung (mit  $D_{Lösung}$ ) mit einer durch die gesamte Aufenthaltsdauer an den Wänden reduzierten Diffusionszeit:

$$2 \cdot D_{\text{Dispersion}} \cdot \Delta = 2 \cdot D_{\text{L\"osung}} \left( \Delta - \Delta_{\text{Kontakt}} \cdot N_{\text{Kontakt}} \right)$$

$$\Leftrightarrow$$

$$N_{\text{Kontakt}} = \frac{D_{\text{L\"osung}} \cdot \Delta - D_{\text{Dispersion}} \cdot \Delta}{D_{\text{L\"osung}} \cdot \Delta_{\text{Kontakt}}} \quad .$$

$$(6.5)$$

Im nächsten Umformungsschritt werden die Zeitvariablen von den Diffusionskoeffizienten getrennt:

$$\frac{N_{\text{Kontakt}} \cdot \Delta_{\text{Kontakt}}}{\Delta} = 1 - \frac{D_{\text{Dispersion}}}{D_{\text{L\"osung}}} \quad . \tag{6.6}$$

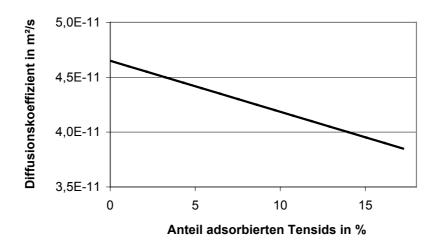
Die linke Seite der Gleichung beschreibt das Verhältnis der Konzentration  $c_{Adsorbiert}$  adsorbierter Moleküle zur Konzentration  $c_{Gesamt}$  aller Moleküle bzw. den Molenbruch  $\chi_{Adsorbiert}$  an adsorbierten Molekülen in jedem Augenblick des Experiments. Man kann also auch schreiben:

$$\frac{c_{\text{Adsorbiert}}}{c_{\text{Gesamt}}} = \chi_{\text{Adsorbiert}} = 1 - \frac{D_{\text{Dispersion}}}{D_{\text{Lösung}}} . \tag{6.7}$$

Mit Hilfe dieser Gleichung kann man nun den Anteil adsorbierter Tensidmoleküle in Abhängigkeit des messbaren Diffusionskoeffizienten der Dispersion berechnen. Weiterhin wird dafür noch der Diffusionskoeffizient von Tensid in einer wässrigen Lösung mit der gleichen Konzentration wie bei einer Nanokapseldispersion benötigt. Folgender Koeffizient wird für Synperonic<sup>®</sup> PE / F68 unter diesen Bedingungen gemessen:

$$D_{L\ddot{o}sung} = 4,65 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}.$$

Abbildung 6.15 zeigt den Verlauf des messbaren Diffusionskoeffizienten in Abhängigkeit vom Anteil *adsorbierten* Tensids, der mit Hilfe der Gleichung 6.7 berechnet wurde.



**Abb. 6.15:** Berechneter Verlauf des Diffusionskoeffizienten von Tensidmolekülen in einer Nanokapseldispersion in Abhängigkeit vom Anteil adsorbierten Tensids.

Der Graph zeigt einen linearen Verlauf mit einer Steigung von -4,65  $\cdot$  10<sup>-13</sup> m²/<sub>s.%</sub>. Die maximale Standardabweichung, die bei den linearen Regressionen zur Ermittlung der Diffusionskoeffizienten in Abbildung 6.14 berechnet wurde, beträgt 1,4  $\cdot$ 10<sup>-12</sup> m²/s. Dieser Wert repräsentiert den Fehler der PFG-NMR-Messmethode im Falle der Tensiddiffusion, was bedeutet, dass Veränderungen im Diffusionskoeffizienten von mehr als  $\pm$ 1,4  $\cdot$  10<sup>-12</sup> m²/s sicher detektierbar sein sollten. Würde der Diffusionskoeffizient des Tensids aufgrund der Anwesenheit von Nanokapseln um diesen Wert absinken, so entspräche dies einem Anteil adsorbierten Tensids von 3,2 %. Folglich muss der Anteil des tatsächlich adsorbierten Tensids kleiner sein.

Nimmt man an, dass 3,2 % der Moleküle auf den Nanokapseln lokalisiert vorliegen, was bei der hier verwendeten Synthese einer Masse von 16 mg entspricht, so kann man die Beladungsdichte  $\rho_{Tensid}$  auf Nanokapseln an Tensid auf der Oberfläche A<sub>Gesamt</sub> aller Nanokapseln berechnen:

$$\rho_{\text{Tensid auf NanokapseIn}} = \frac{m_{\text{Adsorbiert}}}{A_{\text{Gesamt}}} \quad . \tag{6.8}$$

Unter der Annahme, dass die bei der Synthese verwendeten 2 ml Öl komplett eingekapselt werden und der hydrodynamische Radius der Kapseln  $R_{Nanokapsel}$  = 187 nm (Gewichtsmittel laut DNM-Messung, siehe Tabelle 6.6) ist, beträgt die gesamte Oberfläche aller Nanokapseln  $A_{Gesamt}$ :

$$A_{Gesamt} = \frac{V_{Ges} \cdot A_{Nanokapsel}}{V_{Nanokapsel}} = \frac{3 \cdot V_{Ges}}{R_{Nanokapsel}} . \tag{6.9}$$

Somit errechnet sich eine gesamte Oberfläche von 32,1 m² für die Nanokapseln einer Dispersion mit 120 ml Wasser-Ethanol-Gemisch. Schließlich erhält man für den oberen Grenzwert der Beladungsdichte  $\rho_{\text{adsorbiert}}^{\text{max}}$  bei der Nanokapseldispersion, in der 3,2 % der Moleküle zu jedem Zeitpunkt an den Nanokapselwänden adsorbiert vorliegen einen Wert von:

$$\rho_{\text{adsorbiert}}^{\text{max}} = 0.5 \text{ mg/m}^2.$$

Dieser Maximalwert der Beladungsdichte liegt leicht unter den Werten eines ähnlichen Tensid-Nanokapsel-Systems in der Literatur <sup>6.23</sup>. Dort wurde eine Beladungsdichte von 2,4 mg/m² für ein vergleichbares Tensid aus ebenfalls Polyethylen-Propylenoxid-Blockpolymere mit einer mittleren Molmasse von 11500 g/mol gemessen. Die Synthese dieser Kapseln wurde im Gegensatz zu unserem Fall mit dem klassischen Verfahren und mit Isobutylcyanoacrylat als Monomer durchgeführt. Die im Vergleich niedrigere Beladungsdichte kann demnach eine Folge der dünneren und niedermolekulareren Wände sein, die die Anlagerung des Tensids erschweren <sup>6.23</sup>.

Weiterhin lässt sich aus den bisher erlangten Informationen wie Diffusions-koeffizienten, cmc und Kontaktverhalten der mittlere Radius der Mizellen herleiten. Durch den Vergleich des cmc-Werts von 0,013 g/l, der Menge des maximal adsorbierten Tensids mit 3,2 % aller Moleküle und der Gesamtkonzentration in der Dispersion von 4,04 g/l ergibt sich folgende Verteilung:

Anteil freier Tensidmoleküle = 0,3 %, Anteil mizellar gebundener Tensidmoleküle ca. 96%, Anteil auf Nanokapsel adsorbierter Tensidmoleküle max. 3,2 %.

Wie die Verteilungswerte zeigen, ist das Tensid beinahe vollständig in Mizellen gebunden. Von Mizellen selbst ist bekannt, dass sie durch zwei unterschiedlich schnelle Prozesse kontinuierlich Moleküle mit der Umgebung austauschen <sup>6.32-6.34</sup>. Bei dem langsamen Vorgang werden Mizellen im Millisekundenmaßstab auf- und abgebaut. Der zweite Prozess ist die permanente Ad- und Desorption einzelner Tensidmoleküle in Mizellen, der im Nano- bis Mikrosekundenbereich stattfindet. Dieser Austausch führt dazu, dass man bei der Messung der Diffusionskoeffizienten nicht zwischen freien und mizellar gebundenen Molekülen unterscheiden kann. Es erscheint aufgrund der hohen Austauschrate nur ein gemitteltes Verhalten bei der PFG-NMR-Messung, weil dieses nur im Millisekundenfenster Bewegungen detektieren kann. Von Diffusionskoeffizienten in einem schnellen Austauschprozess zwischen zwei Bewegungsmoden ist bekannt, dass sie sich additiv zu einem messbaren Diffusionskoeffizienten zusammensetzen <sup>6.35, 6.36</sup>:

$$D_{\text{Dispersion}} = \chi_{\text{Miz}} \cdot D_{\text{Miz}} + (1 - \chi_{\text{Miz}}) \cdot D_{\text{Frei}} . \tag{6.10}$$

Hier ist  $\chi_{Miz}$  der Molenbruch mizellar gebundenen Tensids, das sich mit einen Diffusionskoeffizienten  $D_{Miz}$  bewegt.  $D_{Frei}$  beschreibt die Beweglichkeit einzelner Tensidmoleküle in ihrer wässrigen Umgebung. Für die Berechnung der Mizellenradien über den Diffusionskoeffizienten wird hier näherungsweise davon ausgegangen, dass alle Tensidmoleküle in Mizellen gebunden vorliegen, also  $\chi_{Miz} \approx 1$  ist. Diese Vereinfachung ergibt:

$$D_{Dispersion} \approx D_{Miz}$$
 . (6.11)

Wie schon im vorangegangenen Abschnitt vorgestellt wurde, konnte folgender Diffusionskoeffizient für das Tensid in reiner Lösung und in einer Nanokapsel-dispersion gemessen werden:

$$D_{Miz}(L\ddot{o}sung) = 4,65 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$$
 und  $D_{Miz}(Dispersion) = 4,60 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ .

Über das Stokes-Einsteinsche Diffusionsgesetz (Gleichung 3.29) lassen sich daraus die hydrodynamischen Radien R<sub>H</sub> der Mizellen berechnen:

$$R_H(L\ddot{o}sung) = 5,27 \text{ nm}$$
 und  $R_H(Dispersion) = 5,31 \text{ nm}$ .

Diese Werte decken sich mit der Beobachtung, dass die hier verwendeten Tensidlösungen ungetrübt sind. Solche Trübungserscheinungen sind von der Partikelgröße und auch von deren Konzentration abhängig. Mit Hilfe der Vergrößerung durch das Dunkelfeldmikroskop konnten bei einer Tensidlösung mit einer Konzentration weit oberhalb der cmc keine Partikel beobachtet werden. Die meisten ionischen Tenside bilden Mizellen mit Aggregaten aus bis zu 100 Monomeren <sup>6,37</sup>. Im Falle des allgemein bekannten Natriumdodecylsulfats (SDS) wurden Aggregate mit einem Radius von 1,3 nm mit Hilfe einer Lichtstreuungsmethode gemessen <sup>6,38</sup>. Nichtionische Tenside bilden größere Mizellen aus 100 bis 1000 Tensidmolekülen <sup>6,37</sup>. Der Grund für die unterschiedlichen Aggregationszahlen liegt in der elektrostatischen Abstossung zwischen den ionischen Enden der Tenside. Dadurch wird der Einbau weiterer Monomere erschwert. Nichtionische Monomere können deshalb größere Mizellen bilden. Für einen verwandten Vertreter des in den Nanokapsel verwendeten Synperonic® F68 PE mit einer etwas höheren mittleren Molmasse von 11500 g/mol

fand man einen hydrodynamischen Radius von 4,8 nm bei 35 °C und einer Tensidkonzentration von 5 g/l <sup>6.39</sup>. Die Größenordnung des Literaturwerts stimmt mit den hier gefunden Radienwerten sehr gut überein, sofern man die geringen Unterschiede in den Molmassen der Tenside und den Messtemperaturen vernachlässigt.

## 6.7 Die gehinderte Diffusion des eingekapselten Öls

Die Diffusion von Ölmolekülen in der Dispersion wird nicht nur von der Beweglichkeit der Moleküle in ihrer Ölumgebung bedingt, sondern auch von der Bewegung dieser Ölumgebung in Form von Nanokapseln im wässrigen Medium.

Ohne Berücksichtigung des eingekapselten Zustands erwartet man dabei, dass die Beweglichkeit der Ölmoleküle deutlich größer ist als die der wesentlich größeren Nanokapseln. Zur Untersuchung der Überlagerung von Öl- und Kapselmobilitäten werden in Abbildung 6.16 die gemessenen Signalzerfälle bei verschiedenen Diffusionszeiten dargestellt.

Auffällig ist bei allen Signalzerfällen, dass die Kurvenverläufe bei kurzen als auch bei langen Diffusionszeiten nahezu linear sind. Demzufolge zeigt das Öl stets nur einen Diffusionskoeffizienten, der mit steigender Diffusionszeit kleiner wird, was einer Abnahme in der Steigung der Graphen entspricht. Abbildung 6.17 zeigt die Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten des Öls von der Diffusionszeit  $\Delta$ .

Der Verlauf der Diffusionskoeffizienten in beiden Nanokapselsystemen zeigt deutlich, dass mit zunehmender Diffusionszeit die Ölmoleküle unbeweglicher erscheinen. Bei kurzen Diffusionszeiten nähert sich die Beweglichkeit des Öls in den Nanokapseln der Mobilität des freien Öls an, welches einen Selbstdiffusionskoeffizienten von 2,3 · 10<sup>-11</sup> m²/s besitzt. Für längere Zeiten tendiert der Koeffizient gegen einen Grenzwert von rund 1 · 10<sup>-12</sup> m²/s. Dieser Wert liegt im Bereich des Diffusionskoeffizienten von Nanokapseln mit einem hydrodynamischen Radius von etwa 150 nm. Das Verhalten des Öldiffusionskoeffizienten spiegelt die Abhängigkeit der Bewegung der eingeschlossenen Ölmoleküle von der Gesamtbewegung der sie enthaltenden Nanokapseln wider (siehe Abbildung 6.5). Die Abbildung verdeutlicht, dass sich bei kurzen Diffusionszeiten die Kapseln nur sehr wenig bewegen, die eingeschlossenen Moleküle des Öls hingegen laufen deutlich weitere Wege (siehe Abb. 6.18, mittleres Schaubild). Solange nur wenige der eingeschlossenen Moleküle an die Wände

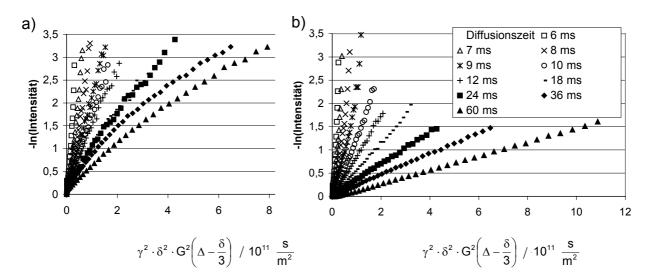
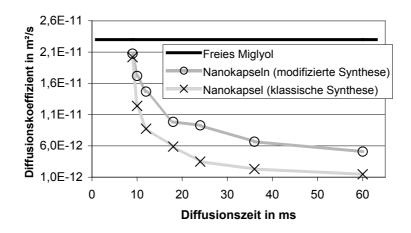
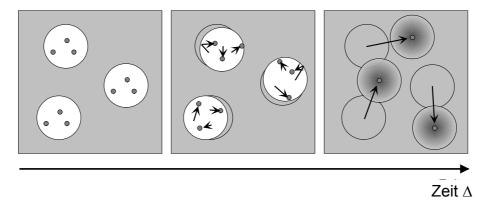


Abb. 6.16: Signalzerfälle des Ölsignals bei 2,1 ppm in Nanokapseldispersionen nach (a) modifizierter und (b) klassischer Synthese.



**Abb. 6.17:** Verlauf des Diffusionskoeffizienten von Öl in verschiedenen Nanokapseldispersionen in Abhängigkeit von der Diffusionszeit.



**Abb. 6.18:** Superpositionsmodell zur Bewegungen von Ölmolekülen in Nanokapseln in Abhängigkeit von der Diffusionszeit  $\Delta$ . Linkes Bild: Bei  $\Delta$ =0 keine Bewegung. Mittleres Bild: Bei kleinen  $\Delta$  nahezu ungehinderte Bewegung. rechtes Bild: Bei großen  $\Delta$  dominieren die Bewegung der Nanokapseln.

stoßen, beobachtet man eine freie Diffusion. Die Anzahl der Wandstöße pro Molekül wächst mit zunehmender Diffusionszeit an. Schließlich finden derart viele Stöße statt, dass Anfangs- und Endpositionen der Bewegungen nicht mehr durch die Gesetzmäßigkeit ihrer Brownschen Bewegung bestimmt werden, sondern die sphärischen Geometrie der begrenzenden Wände widerspiegeln. Parallel zu dieser Entwicklung werden mit steigender Diffusionszeit die Bewegungen der Nanokapseln immer bedeutungsvoller. Letztendlich dominieren ihre weiten Laufwege bei langen Diffusionszeiten die Bewegungen der eingeschlossenen und damit gehinderten kurzen Laufwege der Ölmoleküle. Zusammenfassend beschrieben beobachtet man hier eine Superposition zweier Bewegungsmoden, bei denen das Öl bei  $\Delta \rightarrow 0$  ungehindert und bei  $\Delta \rightarrow \infty$  mit der Mobilität der Nanokapseln diffundiert.

Ähnliche Abhängigkeiten des Diffusionskoeffizienten von der Diffusionszeit wurde bei hochmobilen Molekülen wie Wasser und Öl in verschiedensten polymeren Festkörpern wie Polystyrol und Super-Absorbern beobachtet <sup>6.40, 6.41</sup>.

Betrachtet man den Kurvenverlauf der Dispersion nach der modifizierten Synthese, so fällt auf, dass deren Graphen nicht annähernd so linear verlaufen wie die Graphen der Kapseln nach der klassischen Synthese. Zudem wird der Grenzwert des Diffusionskoeffizienten die Selbstdiffusion der Nanokapseln offensichtlich erst bei deutlich größeren Diffusionszeiten erreicht. Hier tritt ein Prozess auf, der die Beweglichkeit des eingeschlossenen Öls scheinbar vergrößert. Mit diesem Phänomen beschäftigt sich das Kapitel 6.9.

Der Graph der klassisch hergestellten Nanokapseln in Abbildung 6.17 scheint gegen einen Grenzwert für den Diffusionskoeffizienten bei  $1,0\cdot 10^{-12}$  m²/s zu streben. Berechnet man für diesen Wert den hydrodynamischen Radius  $R_H$  mit Hilfe des Stokes-Einsteinschen Diffusionsgesetzes (siehe Gleichung 3.29), so erhält man den mittleren Radius der Nanokapseln:

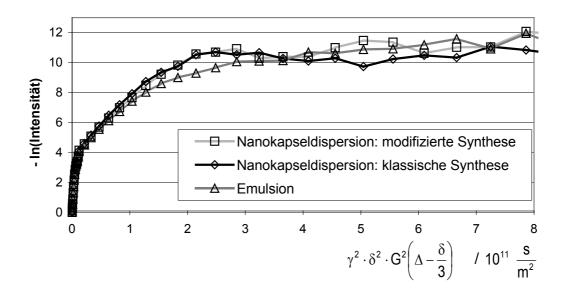
 $R_H \approx 120 \text{ nm}$  .

Dieser Radius stellt im Falle der hier verwendeten PFG-NMR-Methode das Gewichtsmittel der zugrunde liegenden Radienverteilung dar. Der gefundene Wert liegt im Bereich der Ergebnisse der DNM-Messungen (siehe Abschnitt 6.3.3) und der aus der Literatur bekannten Radien <sup>6.1, 6.2, 6.10, 6.11, 6.16</sup>.

#### 6.8 Das Verteilung des Ethanols

Nach dem Wasser ist das Ethanol mit dem zweitgrößten Massenanteil in den Nanokapseldispersionen enthalten. Es hat die Aufgabe, die Viskosität der organischen Phase so zu reduzieren, dass bei der Synthese Öltröpfchen im Nanometermaßstab entstehen können <sup>6.10</sup>. Bislang wurde bislang nicht untersucht, wie das Ethanol in der Dispersion verteilt ist. Die PFG-NMR-Methode wird hier zu Analyse eingesetzt, weil sie zwischen verschieden beweglichen Komponenten eines gleichen Molekültyps unterscheiden kann. Dadurch kann man auf die unterschiedlichen Aufenthaltsorte rückschließen.

Zur Analyse wurde der Ethanolpeak bei 3,6 ppm ausgewertet, der sich mit einer Resonanzlinie des Tensids überlagert. Die Peakflächen von Nanokapseldispersionen nach klassischer und modifizierter Synthese und einer Emulsion wurden in Abbildung 6.19 so aufgetragen, dass anhand der Steigungen an jedem Kurvenabschnitt der Diffusionskoeffizient ablesbar ist.



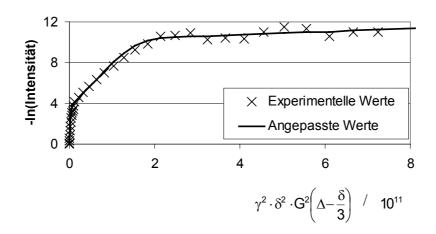
**Abb. 6.19:** Auftragung des Echosignalzerfalls der überlagerten Signale von Ethanol und Tensid bei 3,6 ppm von klassisch und modifiziert hergestellten Nanokapseln sowie einer Emulsion.

Die Auftragung zeigt zunächst, dass die drei Systeme keine bemerkenswerten Unterschiede aufweisen. Bei allen Proben kann man drei unterschiedlich bewegliche Komponenten erkennen. Exemplarisch wird die Kurve der Nanokapseldispersion des

modifizierten Syntheseweges für die Auswertung ausgewählt. Zur ihren Werten kann durch eine manuelle Anpassung eine Kurve folgenden Typs errechnet werden:

$$\Psi \big( K \big) = n_1 \cdot e^{-K \cdot D_1} + n_2 \cdot e^{-K \cdot D_2} + n_3 \cdot e^{-K \cdot D_3} \quad \text{mit} \quad K = \gamma^{\mathbf{2}} \cdot g^{\mathbf{2}} \cdot G^{\mathbf{2}} \bigg( \Delta - \frac{\delta}{3} \bigg) \quad . \quad (6.12)$$

Die drei Summanden repräsentieren die einzelnen Kurvenabschnitte. In Tabelle 6.9 sind die drei Diffusionskoeffizienten  $D_1$  bis  $D_3$  und Anteile  $n_1$  bis  $n_3$  der zugehörigen Kurvenabschnitte aufgeführt. Abbildung 6.20 zeigt die Kurven der experimentellen und angepassten Werte. Mit Hilfe der manuellen Anpassung wurde eine Schwäche der ansonsten üblichen Anpassungsmethode der kleinsten Fehlerquadrate umgangen. Diese Methode vernachlässigt bei Berechnungen über große Wertebereiche die Anpassung der kleineren Werte. Die Berechnung unter der Berücksichtigung des dritten Teilabschnitts war somit nur manuell möglich.



**Abb. 6.20:** Auftragung des Echosignalzerfalls der überlagerten Signale von Ethanol und Tensid bei 3,6 ppm von Nanokapseln nach modifizierter Synthese zusammen mit einer angepassten triexponentiellen Kurve.

**Tabelle 6.9:** Ergebnisse der triexponentiellen Anpassung der Echozerfallskurve einer Nanokapseldispersion nach der modifizierten Synthese:

	1. Teilabschnitt	2. Teilabschnitt	3. Teilabschnitt
D	1,01 · 10 <sup>-9</sup> m²/s	4,5 · 10 <sup>-11</sup> m²/s	1,5 · 10 <sup>-12</sup> m²/s
Anteil n	0,96	0,03	4 · 10-4

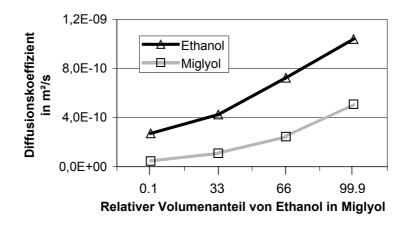
Die Zuordnung der drei Diffusionskoeffizienten wird mit Hilfe von Literaturdaten und Werten aus gesonderten PFG-NMR-Messungen an Reinsubstanzen durchgeführt. In der Literatur findet man für Ethanol in Ethanol einen Selbstdiffusionskoeffizienten bei 25 °C von 1,08 · 10<sup>-9</sup> m²/s <sup>6.26</sup> und für dessen Selbstdiffusion in Wasser einen Wert von 1,24 · 10<sup>-9</sup> m²/s <sup>6.27</sup>. Für das Tensid Synperonic® PE / F68 in Wasser bei einer Konzentration unterhalb der cmc konnte ein Diffusionskoeffizient von 1,05 · 10<sup>-10</sup> m²/s bestimmt werden. Erhöht man die Konzentration des Tensids weit über den Wert der cmc, so erhält man einen Koeffizienten von 4,65 ·10<sup>-11</sup> m²/s. Dieser Wert wurde in Kapitel 6.5 durch die Bildung von Mizellen erklärt. Nanokapseln besitzen Diffusionskoeffizienten um 1,0 · 10<sup>-12</sup> m²/s, was sowohl mit den mittleren Radien der Verteilungen aus den DNM-Messungen korrespondiert, als auch bei den Langzeitdiffusionsmessungen des Öls gemessen wird. Demzufolge lässt sich dem ersten Teilabschnitt die Diffusion des Ethanols und dem zweiten die Diffusion des mizellar gebundenen Tensids zuordnen.

Als Verursacher des dritten Abschnitts kommt zunächst sowohl das Ethanol in ölgelöster Form als auch das auf den Nanokapseloberflächen adsorbierte Tensid in Frage. Beide Verbindungen würden bei einem Aufenthalt auf bzw. in den Kapseln mit dem Diffusionskoeffizienten der Nanokapsel detektierbar sein, analog zum Superpositionsverhalten des Öls in den Kapseln bei langen Diffusionszeiten. Bezüglich des Tensids konnte schon in Kapitel 6.6 gezeigt werden, dass keine ausreichend dauerhaft adsorbierte Fraktion auf den Kapselwänden existiert. Der dritte Abschnitt muss dementsprechend durch eingekapseltes Ethanol erzeugt worden sein.

Wie die Messungen zeigen, ist Ethanol in der wässrigen Umgebung und in den Nanokapseln gelöst. Die Anteile in beiden Phasen wurden bereits mit Hilfe der Anpassung eines triexponentiellen Kurvenverlaufs an die experimentellen Daten bestimmt (siehe Tabelle 6.9). Demnach sind nur 0,042 % des gesamten Ethanols im Öl gelöst. Zusätzlich kann noch von einem weiteren Anteil von Ethanol in den Kapseln ausgegangen werden, der aufgrund eines möglichen Austausches mit der Umgebung bei der Messung nicht detektiert werden kann (siehe auch Kapitel 6.9). Zur Berechnung des relativen Volumenanteils von Ethanol in den Nanokapseln geht man davon aus, dass in der Dispersion das ganze Ölvolumen der Synthese von 2 ml in 100 ml Wasser verteilt ist. In der wässrigen Phase sind 99,95 % des Ethanols gelöst. In den 2 ml Öl sind 0,042 % von insgesamt 25 ml Ethanol, also 0,01 ml

Ethanol gelöst. Der relative Volumenanteil von Ethanol in der organischen Phase beträgt damit 0,5 %.

Zur näheren Untersuchung der Einflüsse des Ethanols wurden zusätzlich die Diffusionskoeffizienten von Öl und Ethanol in verschiedenen Ethanol/Öl-Mischungen gemessen (siehe Abbildung 6.21).



**Abb. 6.21:** Verlauf der Diffusionskoeffizienten von Ethanol und Öl in verschiedenen Ethanol/Öl-Mischungen bei 25 °C.

Die beiden Graphen zeigen, dass mit zunehmendem Ethanolanteil in den Nanokapseln die Beweglichkeiten beider Komponenten ansteigen, wie es gemäß ihrer Viskositätsunterschiede zu erwarten ist. So besitzt das hier verwendete Öl mit 33 mPa·s <sup>6.4</sup> eine rund 20fach höhere Viskosität als Ethanol mit 1,2 mPa·s <sup>6.42</sup>.

Für ein relatives Ethanol/Öl-Volumenmischungsverhältnis von 0,5 % kann anhand der Steigungen dieser Graphen abgelesen werden, dass sich der Selbstdiffusionskoeffizienten des Öls nur unwesentlich gegenüber dem Koeffizienten der reinen Komponente verändert. Die gelösten Ethanolmoleküle sind deutlich unbeweglicher als Moleküle in reinem Ethanol. Folgende Diffusionskoeffizienten für Ethanol und Öl können aus den Graphen abgelesen werden:

$$D_{Kap}(EthanoI) \approx 2.7 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$$

und

 $D_{Kap}(Miglyol^{\otimes} 812 \text{ N}) \approx 4.6 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}.$ 

Zum Abschluss dieses Kapitels wird die gehinderte Diffusion des Ethanols in den Kapseln und der Einfluss der höheren Viskosität diskutiert. Zusätzlich zu der Immobilisierung der Moleküle durch die Ölumgebung ist zu erwarten, dass die Beweglichkeit des Ethanols mit ansteigender Diffusionszeit durch die Geometrie der Nanokapseln zunehmend eingeschränkt wird. Da der Diffusionskoeffizient des Ethanols in den Kapseln größer ist als der des Öls, tritt der Effekt im Falle des Ethanols bei noch kürzeren Diffusionszeiten ein (siehe Kapitel 6.6). Deshalb kann man hier bei einer Diffusionszeit von nur 30 ms eine komplett gehinderte Diffusion beobachten und somit im dritten Abschnitt der gemeinsamen Zerfallskurve von Ethanol und Tensid die Bewegung der Kapseln messen. Im Gegensatz dazu kann man im Falle der Öldiffusion bei 30 ms immer noch Einflüsse der freien Diffusion der Moleküle innerhalb der Nanokapseln detektieren (siehe Abbildung 6.17).

#### 6.9 Benzol als Sonde zur Messung des Kapselwandwiderstands

Moleküle wie Wasser werden bei PFG-NMR-Messungen häufig als inhärente Sonden verwendet, um mittels Diffusionsmessungen Strukturen in Festkörpern und mehrphasigen Systemen zu ermitteln. An dieser Stelle muss eine klare Abgrenzung zu der Verwendung von "chemischen" Sonden getroffen werden, welche durch die Wechselwirkung ihrer Elektronenorbitale oder Kernspins mit der Umgebung als Informationslieferanten dienen (Beispiel: Xe-NMR Spektroskopie <sup>6.43</sup>). In dieser Arbeit versteht man unter einer Sonde ein Molekül, dessen Selbstdiffusionseigenschaften bekannt sind, so dass es in einem unbekannten System zu dessen Analyse genutzt werden kann. Die systembedingten Veränderungen bezüglich der Selbstdiffusion können dann mit Hilfe der PFG-NMR-Methode erfasst werden.

Benzol hat die Eigenschaft, sich sehr gut in organischen Lösemitteln und relativ schlecht in wässriger Umgebung zu lösen <sup>6.27</sup>. Die Kombination aus geringer Wasserlöslichkeit und einer Größe von nur 0,5 nm (längste Molekülerstreckung) macht es zu einem idealen Kandidaten, um als Sonde die Eigenschaften der Nanokapselwände und Grenzflächen zu erforschen. Die hohe Fettlöslichkeit ist deshalb sehr vorteilhaft, weil im Nanokapselsystem nur eine geringe Konzentration von ca. 2 Vol.-% dispergierten Öls in Wasser vorliegt. Die Beobachtung von Molekülen in

den Nanokapseln und in der Kapselumgebung erfordert aus messtechnischen Gründen eine möglichst ausgewogene Verteilung der Sondenmoleküle auf beide Phasen. Dies minimiert den Einfluss des Grundrauschens bei PFG-NMR-Messungen und verbessert die Ergebnisse. Im Falle des Benzols werden diese Bedingungen erfüllt. Die geringe Größe ist ein weiterer allgemeiner Vorteil von Benzolsonden bei der Untersuchung von Kapselwandwiderständen, da beim Durchtreten der polymeren Wände sterische Behinderungen schwächer als bei größeren Molekülen ausfallen. Prinzipiell kann daher mit Benzol ein wesentlich breiterer Bereich an Widerständen bis zur völligen Undurchlässigkeit observiert werden, als dies mit größeren Molekülen möglich wäre.

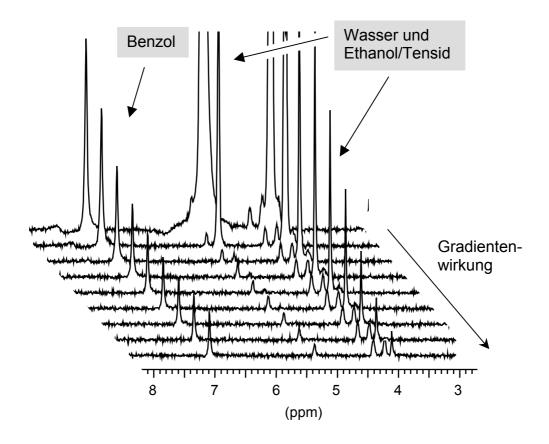
Benzol besitzt als einzige <sup>1</sup>H-Resonanz das Singulett der aromatischen Protonen bei 7,1 ppm (siehe Abbildung 6.22). Dieses Signal zerfällt ähnlich wie die überlagerten Signale von Ethanol und Tensid bei 3,7 ppm mit steigender Gradientenwirkung anfangs relativ schnell. Anschließend findet man nur noch eine geringe Signalabnahme. Die Benzollinie wird von keiner Resonanz einer anderen Komponente im System überlagert (siehe auch Tabellen 6.1 bis 6.3). Dies erleichtert die Auswertung bzw. die Bestimmung der Signalfläche und bestätigt erneut Benzol als besonders gut geeignete Sonde zur Untersuchung von Nanokapseldispersionen.

Aus dem Zerfall bei großen Gradientenwirkungen und langen Diffusionszeiten  $\Delta$  lässt sich über die Gleichung 4.17 ein Diffusionskoeffizient für Benzol ableiten, der dem Diffusionskoeffizienten der freien Bewegung von Nanokapseln entspricht:

D(starke Gradientenwirkung) = 
$$1,64 \cdot 10^{-12}$$
 m<sup>2</sup>/s

Die zugehörigen Kapseln besitzen einen hydrodynamischen Radius von 150 nm. Dieser Wert korrespondiert sehr gut mit den mittleren Radien der Größenverteilungen aus den DNM-Messungen (siehe Tabelle 6.6). Hier wird somit eingekapseltes Benzol sichtbar. Bei schwachen Gradientenwirkungen findet man mit der gleichen Auswertungsmethode einen deutlich beweglicheren Anteil des Benzols:

D(schwache Gradientenwirkung) =  $4,50 \cdot 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s.

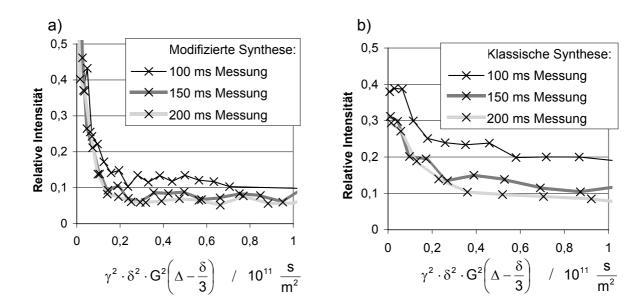


**Abb. 6.22:** PFG- $^1$ H-NMR Spektren: Signalzerfall von Benzol mit steigender Gradientenwirkung  $\gamma \cdot \delta \cdot g$  in einer Nanokapseldispersion.

Der Koeffizientenwert D(schwache Gradientenwirkung) liegt etwa eine Zehnerpotenz unter den aus der Literatur bekannten Diffusionskoeffizienten der Selbstdiffusion von Benzol in Wasser (1,02 · 10<sup>-9</sup> m²/s) und Benzol in Benzol (2,21 · 10<sup>-9</sup> m²/s) <sup>6.27</sup>. Für die freien, nicht eingekapselten Moleküle muss es eine andere Form der Wechselwirkung geben, die ihre Beweglichkeiten einschränken. Eine naheliegende Möglichkeit wäre eine kurzzeitige Adsorption freier Moleküle in Mizellen, wobei die Oberflächenenergie der Benzolmoleküle erniedrigt wird. Aufgrund der geringen Größe der Mizellen besitzen diese Diffusionskoeffizienten von rund 4,6 · 10<sup>-11</sup> m²/s (siehe Kapitel 6.6). Der gefundene Wert des Benzols liegt zwischen dem der Mizellen und dem des freien Benzols. Es scheint deshalb plausibel, dass Benzol zwischen den Reservoiren der molekular gelösten Form in wässriger Umgebung und dem adsorbierten Zustand in den Mizellen austauscht. Ein derartiger intermizellarer Austausch von Molekülen findet gewöhnlich im MHz-Bereich statt <sup>6.32, 6.33</sup>. Der gefundene Diffusionskoeffizient von Benzol außerhalb der Nanokapseln steht demnach für ein zeitlich ausgemitteltes Verhalten.

Zur PFG-NMR-Unteruchung des Benzolaustausches zwischen den beiden Reservoiren Nanokapseln und wässriger Umgebung kann die Form der Signalzerfälle auf mathematischen Wege ausgewertet werden <sup>6.36, 6.44</sup>. Bei den Messungen für diese Analyse wurden dazu die Diffusionszeiten so gewählt, dass davon ausgegangen werden kann, dass der Diffusionskoeffizient des eingekapselten Benzolanteils von der Kapselbewegung bestimmt wird.

Mit zunehmenden Diffusionszeiten beobachtet man eine Abnahme der Signalintensitäten des Endniveaus von Benzol in den Kapseln (siehe Abbildung 6.23).

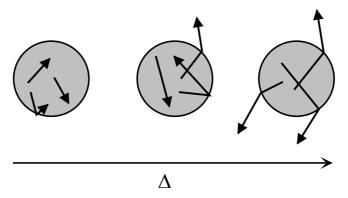


**Abb. 6.23:** Signalzerfall von Benzol in Nanokapseldispersionen nach klassischer (a) und modifizierter, (b) Synthese bei Diffusionszeiten von 100, 150 und 200 ms.

Neben der Aufspaltung der Kurven bei verschiedenen Diffusionszeiten findet man auch insgesamt eine geringere Signalintensität bei den drei Kurven der modifizierten Synthese. Beide Beobachtungen können über einen Molekülaustausch zwischen dem Kapselinneren und der Umgebung bei unterschiedlicher Wandpermeabilitäten erklärt werden.

Ein Modell zur Ursache der Auffächerung bzw. des Intensitätsverlustes bei ansteigender Diffusionszeit wird in Abbildung 6.24 dargestellt. Je länger die Diffusionszeit  $\Delta$  gewählt wird, desto mehr Moleküle kann man beim ihrem Austritt aus einer Nanokapsel beobachten. Bei diesem Prozess werden durch die ansteigende Diffusionszeiten zum einen die Bewegungswege der eingeschlossenen Moleküle größer, zum anderen steigt die Anzahl der Wandkollisionen an, was die Austrittswahrscheinlichkeit der Moleküle zusätzlich steigert. Parallel zu den Austritten von Molekülen werden

auch Moleküle aus der Umgebung in die Kapseln eintreten. Hier gilt, dass die Anzahl der freigesetzten Moleküle gleich der der eintretenden ist. So gesehen ist das System in einem Verteilungsgleichgewicht mit einem permanenten Austausch zwischen den beiden Phasen.



**Abb. 6.24:** Modell zur Freisetzung von Molekülen aus Nanokapseln in Abhängigkeit von der Diffusionszeit  $\Delta$ : Mit längeren Zeiten nimmt die Anzahl der Moleküle ab, die in der Zeit  $\Delta$  fortwährend eingekapselt waren.

Im PFG-NMR Experiment kann man zwischen den beiden Typen der eingekapselten und freien Moleküle unterscheiden. Der Signalabbau der Resonanzen der freien Moleküle ist aufgrund der höheren Beweglichkeit wesentlich drastischer als der der eingekapselten. In den Graphen der Echointensitäten in Abbildung 6.23 kann der Austausch von Molekülen besonders gut an dem von der Diffusionszeit abhängigen Signalverlust bei höheren Gradientenwirkungen beobachtet werden. Hier zeigt sich der Mobilitätsgewinn der aus den Kapsel freigesetzten Moleküle aus.

Ein solches Signalverhalten wurde bereits bei Tensiden in Polystyrolpartikelsuspensionen beobachtet <sup>6.36</sup>. Hier fand man ebenfalls eine Zeitabhängigkeit der Echointensität bei stärkeren Gradientenwirkungen, die durch einen Austausch von Tensidmolekülen zwischen Mizellen und Partikeloberflächen verursacht wurde.

Zur quantitativen Untersuchung des Austausches wird hier im Gegensatz zu Gleichung 6.5 nicht die Vereinfachung getroffen, dass die reziproken Austauschraten des Prozesses wesentlich kleiner als die verwendeten Diffusions- bzw. Beobachtungszeiten sind. In diesem Fall wird von reziproken Austauschraten ausgegangen, welche wie die Diffusionszeiten im Bereich von Millisekunden liegen.

Die Grundlage der Herleitung bildet die nachfolgende Theorie, welche den Signalzerfall im PFG-NMR Experiment anhand zweier Populationen von Molekülen mit unterschiedlichen Diffusionskoeffizienten berechnet <sup>6.36, 6.44</sup>. Dabei berücksichtigt sie

für die Moleküle mittlere Aufenthaltsdauer in den Nanokapseln und im umgebenden Medium. Die Herleitung beginnt über die Gleichung zum Echosignalzerfall für freie Diffusion <sup>6.45-6.48</sup>:

$$\Psi(\Delta, \delta \cdot g) = \frac{M_x}{M_0} = e^{-\gamma^2 \cdot \delta^2 \cdot g^2 \cdot D \cdot \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right)} . \tag{6.13}$$

Die partielle Ableitung nach der Diffusionszeit  $\Delta$  liefert die Abhängigkeit der relativen Echointensität  $\Psi$  von der Diffusionszeit:

$$\frac{\partial \Psi(\Delta, \delta \cdot \mathbf{g})}{\partial \Delta} = -\gamma^2 \cdot \delta^2 \cdot \mathbf{g}^2 \cdot \mathbf{D} \cdot \Psi(\Delta, \delta \cdot \mathbf{g}) \quad . \tag{6.14}$$

Der Einfluss des molekularen Austausches wird durch die Ergänzung zweier Terme berücksichtigt, in denen die Aufenthaltsdauer der Moleküle innerhalb der Kapsel mit  $\tau_{\text{Kap}}$  und im umgebenden Medium mit  $\tau_{\text{Frei}}$  beschrieben werden:

$$\frac{\partial \Psi_{\text{Kap}} \left( \Delta, \delta \cdot g \right)}{\partial \Delta} = - \gamma^2 \cdot \delta^2 \cdot g^2 \cdot D \cdot \Psi_{\text{Kap}} \left( \Delta, \delta \cdot g \right) - \frac{\Psi_{\text{Kap}} \left( \Delta, \delta \cdot g \right)}{\tau_{\text{Kap}}} + \frac{\Psi_{\text{Frei}} \left( \Delta, \delta \cdot g \right)}{\tau_{\text{Frei}}} \quad (6.15)$$

und

$$\frac{\partial \Psi_{\mathsf{Frei}} \left( \Delta, \delta \cdot g \right)}{\partial \Delta} = -\gamma^2 \cdot \delta^2 \cdot g^2 \cdot D \cdot \Psi_{\mathsf{Frei}} \left( \Delta, \delta \cdot g \right) - \frac{\Psi_{\mathsf{Frei}} \left( \Delta, \delta \cdot g \right)}{\tau_{\mathsf{Frei}}} + \frac{\Psi_{\mathsf{Kap}} \left( \Delta, \delta \cdot g \right)}{\tau_{\mathsf{Kap}}} \ . \ \ (6.16)$$

Dabei bilden die relativen Echointensitäten in der Kapsel  $\Psi_{\text{Kap}}$  und im umgebenden Medium  $\Psi_{\text{Frei}}$  in Summe die beobachtbare Gesamtintensität  $\Psi$ :

$$\Psi(\Delta, \delta \cdot \mathbf{g}) = \Psi_{\mathsf{Kap}}(\Delta, \delta \cdot \mathbf{g}) + \Psi_{\mathsf{Frei}}(\Delta, \delta \cdot \mathbf{g}) \tag{6.17}$$

Die Gleichungen 6.15 und 6.16 stellen ein Paar gekoppelter Differentialgleichungen dar, welche allgemein von folgendem Typ sind:

$$\frac{\partial m}{\partial x} = -\alpha \cdot m + b \cdot n \qquad \text{und} \qquad \frac{\partial n}{\partial x} = -\beta \cdot n + a \cdot m . \qquad (6.18)$$

Die Lösungen dieses Gleichungssystems lautet:

$$m(x) = A_{+} \cdot e^{-\phi_{+} \cdot x} + A_{-} \cdot e^{-\phi_{-} \cdot x}$$
 (6.19)

und 
$$n(x) = B_{+}e^{-\phi_{+} \cdot x} + B_{-}e^{-\phi_{-} \cdot x}$$
, (6.20)

mit 
$$2 \cdot \phi_+ = (\alpha + \beta) \pm \sqrt{(\alpha - \beta)^2 + 4 \cdot a \cdot b}$$
 (6.21)

und 
$$B_{\pm} = -(\phi_{\pm} - \alpha) \frac{A_{\pm}}{b}$$
 (6.22)

m(x) und n(x) sind analog zu  $\Psi_{\text{Kap}}$  und  $\Psi_{\text{Frei}}$ . Entsprechend zu Gleichung 6.17 ergibt die Summe der Lösungen (6.19 und 6.20) die gesuchte Gesamtintensität  $\Psi$ :

$$\Psi \big( \Delta, \delta \cdot g \big) = A_{_+} \cdot e^{_{-\phi_{_+} \cdot x}} + A_{_-} \cdot e^{_{-\phi_{_-} \cdot x}} + B_{_+} \cdot e^{_{-\phi_{_+} \cdot x}} + B_{_-} \cdot e^{_{-\phi_{_-} \cdot x}} \ .$$
 (6.23)

Im weiteren Verlauf werden die Summanden mit gleichem Exponenten zusammengefasst und mit Hilfe von Gleichung 6.22 vereinfacht. Berücksichtigt man noch, dass  $A_++A_-=P_a$  und  $B_++B_-=P_b$  ist, wobei  $P_a$  und  $P_b$  die Anteile der Komponente in den jeweiligen Phase darstellen, erhält man schließlich die Auswertungsgleichung:

$$\Psi(\Delta, \delta \cdot g) = P'_{a} \cdot e^{-k'_{a} \cdot \Delta} + P'_{b} \cdot e^{-k'_{b} \cdot \Delta}$$
(6.24)

mit

$$P'_{a} = 1 - P'_{b} , \qquad P'_{b} = \frac{1}{2} - \frac{\frac{1}{4} \left[ \left( P_{b} - P_{a} \right) \left( k_{a} - k_{b} \right) + \frac{1}{\tau_{a}} + \frac{1}{\tau_{b}} \right]}{C_{2}}$$

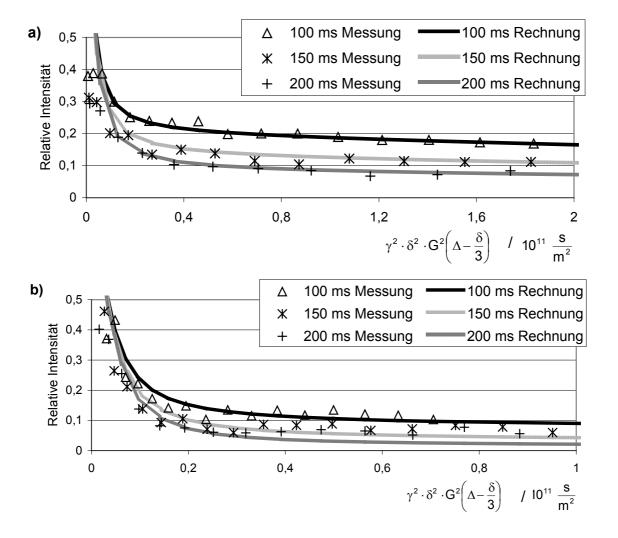
$$k'_a = C_1 - C_2$$
 ,  $k'_b = C_1 + C_2$ 

$$C_1 = \frac{1}{2} \left( k_a + k_b + \frac{1}{\tau_a} + \frac{1}{\tau_b} \right) \quad , \qquad C_2 = \frac{1}{2} \sqrt{ \left( k_b - k_a + \frac{1}{\tau_b} - \frac{1}{\tau_a} \right)^2 + \frac{4}{\tau_a \cdot \tau_b}}$$

$$k_a = \gamma^2 \cdot \delta^2 \cdot g^2 \cdot D_a \quad , \qquad \quad k_b = \gamma^2 \cdot \delta^2 \cdot g^2 \cdot D_b \quad . \label{eq:kappa}$$

Mit dieser Auswertungsgleichung lassen sich nun die Echosignalzerfälle bei verschiedenen Diffusionszeiten  $\Delta$  mathematisch anpassen und die Aufenthaltsdauer der Moleküle innerhalb der Kapsel mit  $\tau_{\text{Kap}}$  und im umgebenden Medium mit  $\tau_{\text{Frei}}$  ermitteln. Abbildung 6.25 zeigt die Signalzerfälle von Benzol in Nanokapseldispersionen, die nach der klassischen und der modifizierten Synthesevorschrift hergestellt wurden. Die Datenreihen wurden bei unterschiedlichen Diffusionszeiten aufgenommen.

Die berechneten Kurven passen im Falle der Nanokapseln nach der klassischen Synthese sehr gut zu den Messpunkten. Bei den Messreihen zu den modifizierten Nanokapseln treten stärkere Abweichungen auf. Hier muss aber darauf hingewiesen werden, dass bei beiden Dispersionen nur ein sehr geringer Anteil Benzol hinzu-



**Abb. 6.25:** Signalzerfall von Benzol in Nanokapseldispersionen nach klassischen (a) und modifizierten Syntheseverfahren (b). Die durchgezogenen Linien stellen die berechneten Kurvenverläufe für die verschiedenen Diffusionszeiten von 100 bis 200 ms dar.

**Tabelle 6.10:** Ergebnisse der Anpassung der theoretischen Kurven an die Messergebnisse des Benzolaustauschverhaltens in Nanokapseldispersionen:

	Klassische Synthese	Modifizierte Synthese
<sup>Т</sup> Кар	130 ms	70 ms
τ <sub>Frei</sub>	115 ms	60 ms
D <sub>Kap</sub>	1,00 · 10 <sup>-12</sup> m²/s	1,00 · 10 <sup>-12</sup> m²/s
D <sub>Frei</sub>	4,50 · 10 <sup>-10</sup> m²/s	4,50 · 10 <sup>-10</sup> m²/s

gegeben werden kann, da höhere Anteile die Kapselwände auflösen können. Insgesamt sind deshalb relativ schwache Resonanzen beobachtbar. Je stärker die Signalabnahme bei den Messungen ausfällt, desto mehr stört das Grundrauschen in den Spektren die Auswertungen der Resonanzlinien. Dies erklärt die Abweichungen der berechneten Kurven von den Messdaten im Falle der modifizierten Nanokapseln. Bei der Anpassung der Kurven orientiert man sich aus diesem Grunde an einer optimalen Übereinstimmung anhand der Knickpunkte. Die zugehörigen Simulationsparameter bzw. die Aufenthaltsdauer  $\tau_{Kap}$  und  $\tau_{Frei}$  sind in Tabelle 6.10 zusammengefasst. Die Daten in der Tabelle belegen, dass der Aufenthalt des Benzols in den Nanokapseln in beiden Systemen nur wenig länger andauert als in umgebenden Medium. Dies ist ein deutlicher Nachweis der hohen Lipophilie des Benzols. Berücksichtigt man, dass das Volumen der Umgebung rund 98 Vol.-% des Gesamtvolumens darstellt. so kann man aus der relativ kurzen Aufenthaltsdauer schließen, dass Benzol bevorzugt in der Kapsel gelöst vorliegt. Die Verhältnisse von  $\tau_{Kap}$  zu  $\tau_{Frei}$  sind mit 1,13 bei den klassisch und 1,17 bei den modifiziert herstellten Nanokapseln für beide Dispersionen nahezu identisch. Für τ<sub>Frei</sub> findet man bei den Kapseln nach der klassischen Synthese etwa den doppelten Wert, den man bei den modifizierten Nanokapseln beobachten kann. Gleiches gilt für  $\tau_{Kap}$ . Der Grund für die längere Aufenthaltsdauer bei den Kapseln aus der klassischen Synthese kann mit Hilfe eines höheren Wandwiderstands begründet werden. Mit anderen Worten ist im Falle der Nanokapseln nach klassischer Synthese der Austausch bzw. Transport durch die Wand stärker behindert, was zu längeren Aufenthaltszeiten der Benzolmoleküle auf beiden Seiten der Membran führt. Diese Beobachtung korreliert mit den Ergebnissen der Messungen der Wandstärken und mittleren Molmassen der Polymere in beiden Systemen (siehe Abschnitt 6.2.3). Die klassische Synthese erzeugt Kapselwände mit rund 78 % dickeren Wänden als die modifizierte Synthese. Ähnlich verhalten sich die Molmassen der Polymere. Die Molmasse ist bei der klassischen Synthese ca. achtmal so groß. Leitet man aus den längeren Polymerketten und höheren Wandstärken bei den klassischen Kapseln einen höheren Grad der Verflechtung der Ketten her, so scheint dieses dichtere Netzwerk den höheren Widerstand für den Benzoldurchtritt zu bewirken. Bei der Untersuchung der Freisetzung von Fluorescein und Doxorubicin aus Nanokaspeln fand man in der Literatur mit abnehmender Länge der Seitenkette (Polybutyl-, Polyethyl- und Polymethylcyanoacrylat) zunehmende Freisetzungsraten <sup>6.49</sup>. Auch dort ist anscheinend die Verflechtung in den Wänden der entscheidende Faktor für die Geschwindigkeit der Austausches. Offensichtlich bewirken die längeren Seitenketten einen höheren Grad der Verwicklung, weil sich diese Polymerketten zusätzlich an der Vernetzung beteiligen können. Zusätzlich zeigten Messungen an Nanokapseln, die mit unterschiedlichen Monomerkonzentrationen hergestellt wurden, dass sich die Freisetzungsrate proportional zum reziproken Wert der Wandstärke verhält <sup>6.49</sup>. Dabei wurde vorausgesetzt, dass die Wandstärke von der Monomermenge abhängig ist.

Eine abschließende Betrachtung soll sich mit dem Austausch des Benzols zwischen Nanokapseln und ihrer Umgebung und den dabei auftretenden Wechselwirkungen zu den oberflächlich adsorbierten Tensidmolekülen befassen. Es liegt nahe, dass die Tensidmoleküle die austretendenden Benzolmoleküle durch ihre Ablösung solubilisieren und dadurch den Vorgang beschleunigen können. Dass ihre Beteiligung an einem solchen Prozess sehr wahrscheinlich ist, belegen ihre relativ kurzen Kontaktzeiten von 0,5 bis 1 ms <sup>6.28</sup>, die zeigen, wie schwach gebunden das Tensid an der Oberfläche vorliegt. Auf ihrem Rückweg in die Kapseln werden vermutlich alle Benzolmoleküle mit einer Tensidhülle von den tensidbeschichteten Oberflächen abgestoßen. Insofern können sicherlich nur freie Benzolmoleküle wieder erfolgreich in die Kapsel eintreten.

Die bisher beschriebenen Beobachtung zum Diffusionsverhalten des Benzols in den Nanokapseln und deren wässriger Umgebung können nun zu einem Modell für das Benzolverhalten in Dispersionen zusammengefasst werden:

- a) Die klassisch hergestellten Nanokapseln besitzen für Benzol aufgrund ihrer dickeren und stärker verflochtenen Wände eine geringer Austauschrate als die Nanokapseln nach dem modifizierten Syntheseverfahren. Die Aufenthaltsdauer in beiden Reservoiren verdoppelt sich, wenn die Wandstärke von 4,5 auf 8,0 nm zunimmt und die mittlere Molmasse des Polymers von 8000-10000 auf 84000 g/mol ansteigt.
- b) Beim Austritt des Benzols aus den Nanokapseln diffundieren die Moleküle, nachdem sie das Polymer der Wand passiert haben, durch die Tensidschicht. Dabei wird vermutet, dass die Benzolmoleküle für ihre besser Solubilisation in der wässrigen Phase Tensidmoleküle mitreißen.
- c) Benzol wird außerhalb der Nanokapseln in Mizellen gebunden und erfährt einen intermizellaren Austausch, was sich in einer herabgesetzter Beweglichkeit im Vergleich zu freien Benzolmolekülen widerspiegelt.
- d) Der Wiedereintritt des Benzols in die Nanokapseln gelingt nur freien Molekülen, die nicht in Mizellen adsorbiert wurden. Dazu müssen die Benzolmoleküle zuvor aus den Mizellen austreten.
- e) Die Variation des pH-Werts der organischen Phase bietet bei der Synthese die Möglichkeit, Wandstärke und Polymerisationsgrad zu steuern. Damit kann nachweisbar der Austauschvorgang von Benzol beeinflusst werden.

In Abbildung 6.26 ist ein Modell zur Freisetzung von Benzol aus Nanokapseln dargestellt. Das Modell macht deutlich, dass auf diese Weise alle eingekapselten Moleküle austreten können, sofern ihre Größe bzw. die Porosität der Wände den Austritt möglich macht. Aus pharmazeutischer Sicht ist die Beobachtung des Austausches lipophiler Moleküle von besonderer Bedeutung. Zeigt sie doch, dass auf diese Weise relativ kleine Wirkstoffmoleküle den Träger verlassen könnten. Dadurch würden die Moleküle kontinuierlich in ungeschützten Kontakt mit der Umgebung gelangen, bevor sie ihren Zielort erreichen. Zur Vermeidung dieses Prozesses sollte der Wandwiderstand erhöht werden.

Selbst das eingeschlossene Öl unterliegt anscheinend diesem Prozess. In der Diskussion der Messergebnisse zur Öldiffusion wurde auf eine Abweichung der Zeitabhängigkeit der Diffusionskoeffizienten von Öl in Nanokapseln nach klassischer und nach modifizierter Synthese hingewiesen (siehe Abbildung 6.17). Die Beweglichkeit der Ölmoleküle im Falle der dünnwandigeren Kapseln scheint bei gleichen Diffusionszeiten deutlich größer zu sein. Hier kann dieses Verhalten mit dem Austausch von

Ölmolekülen zwischen Kapseln und Umgebung erklärt werden. Unter der Annahme, dass Öl nur kurzzeitig (wenige Millisekunden) die Nanokapseln verlässt, durch das

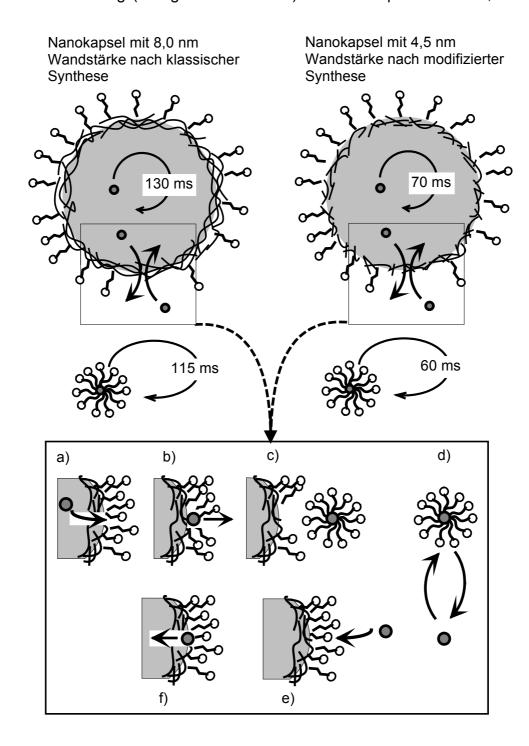


Abb. 6.26: Modell für den Austausch von öllöslichen Komponenten zwischen Nanokapseln und der Umgebung. Oben: Darstellung der verschiedenen Aufenthaltszeiten in Abhängigkeit von den Wandstärken. Unten: Austauschmechanismus: a) bis c) Desorption mit anschliessender Solubilisation durch die Tensidmoleküle. d) Intermizellarer Austausch von lipophilen Molekülen. e) und f) Moleküladsorption.

Tensid in Mizellen stabilisiert wird und schließlich wieder die Kapseln eintritt, würde man eine höhere Mobilität und einen größeren Diffusionskoeffizienten beobachten. Allerdings ist eine längere Aufenthaltszeit in den Nanokapseln im Vergleich zum Benzol ebenfalls zu erwarten, weil die Moleküle des Öls deutlich größer als die des Benzols sind. Dass dieser Prozess besonders bei den Kapseln der modifizierten Synthese zum Tragen kommt liegt wiederum an dem geringen Wandwiderstand, wie auch die Benzolexperimente zeigen. Letztlich kann diese These nicht durch ein Austauschexperiment analog zu dem mit Benzol belegt werden. Dazu ist der Anteil des Ölsignals der höher beweglichen Komponente zu gering.

Insgesamt bestätigen die Beobachtungen an Benzol und auch am Öl, dass der Prozess, der der Ostwaldschen Reifung zugrunde liegt, selbst bei Nanokapseln möglich ist. Das starre Polymergerüst scheint den eigentlichen Reifungvorgang zu verhindern.

Die Steuerung des Freisetzungsprozesse wird nicht allein über die Größe der Wirkstoffmoleküle, die Wandstärke und die Polymermolmassen der Nanokapseln bewirkt, auch die Tensidmoleküle üben anscheinend einen Einfluss aus. Wie die Messungen zeigten, sind die Tenside an dem Prozess beteiligt und die Geschwindigkeit der Freisetzung muss demnach auch über geeignete Tenside steuerbar sein. So könnten Netzmittel mit einem geringen Solubilisationsvermögen den Prozess verlangsamen, eventuell stoppen.

#### Literatur:

- 6.1 N. Al Khouri Fallouh, L. Roblot-Treupel, H. Fessi, J. Ph. Devissaguet, F. Puisieux, Int. J. Pharm., 28, 125-132, (1986)
- 6.2 **M. Wohlgemuth, W. Mächtle, C. Mayer**, J. Microencapsulation, 17, 4, 437-448, (2000)
- 6.3 **M. Wohlgemuth**, Diplomarbeit am Institut für Physikalische und Theoretische Chemie an der Universität Duisburg, (1997)
- 6.4 Produktinformation zu Miglyol<sup>®</sup> 812 N der Firma Hüls AG, Witten
- 6.5 **C. A. Fyfe**: "Solid State NMR for Chemists", C.F.C Press Ontario, (1983)
- 6.6 **U. Großpietsch**, Dissertation am Institut für Physikalische und Theoretische Chemie der Universität Duisburg, (2001)
- 6.7 **H. Lange**, Part. Part. Syst. Charact., 12, 148-157, (1995)
- 6.8 **H. Hang, H. Zhang, J. Li, S. Cheng, F. Hu, B. Tan**, J. Appl. Polymer Sci., 68, 2029-2039, (1998)
- 6.9 **P.C. Hiemenz**: "Principles of colloid and surface chemistry" 2nd Edition Marcel Dekker, Inc., (1986)
- 6.10 M. Gallardo, G. Couarraze, B. Denizot, I. Treupel, P. Couvreur, F. Puisieux, Int. J. Pharm. 100, 55-64, (1993)
- 6.11 **F. Chouinard, F. W. K. Kan, J.-C. Leroux, C. Foucher, V. Lenaerts**, Int. J. Pharm. 72, 211-217, (1991)
- 6.12 Ulmanns Encyclopädie der technischen Chemie, 4. Auflage, Band 10, Verlag Chemie Weinheim, (1975)
- 6.13 **K. Landfester, N. Bechthold, F. Tiarks, M. Antonietti**, Macromolecules, 32, 5222-5228, (1999)
- 6.14 **I.C. Eromosele, D.C. Pepper, B. Ryan**, Makromol. Chem., 190, 1613-1622, (1989)
- 6.15 **U. Großpietsch**, Dissertation am Institut für Physikalische und Theoretische Chemie der Universität Duisburg, (2001)
- 6.16 **J. M. Rollot, P. Couvreur, L. Roblot-Treupel, F. Puisieux,** J. Pharm. Sci. 75, 361-364, (1986)
- 6.17 **F. Lescure, C. Zimmer, D. Roy, P. Couvreur**, J. Colloid Interface Sci., 154, 77-86, (1992)
- 6.18 **G. Puglisi, G. Giammona, M. Fresta, B. Carlisi, N. Micali, A. Villari**, J. Microencapsulation, 10, 353-366, (1993)

- 6.19 **M. A. El-Egakey, V. Bentele, J. Kreuter**, Int. J. Pharm., 13, 349-342, (1985)
- 6.20 **S. J. Douglas, S. S. Davis, S. R. Holding**, Br. Polym. J., 17, 339-342, (1985)
- 6.21 **J. Kreuter**: "Nanoparticles", 219-342, in "Colloidal Drug Delivery Systems", Ed.: J. Kreuter, Dekker, New York, (1994)
- 6.22 **A. M. C. Griffin, W.G.J. Griffin**, J. Colloid Interface Sci., 104, 409-415, (1985)
- 6.23 F. Chouinard, S. Buczkowski, V. Lenaerts, Pharm. Res. 11 (6), 869-874, (1994)
- 6.24 **G. Brezesinski, H.-J. Mögel**: "Grenzflächen und Kolloide", Spektrum Akademischer Verlag, (1993)
- 6.25 **D. H. Everett**, "Colloid Science", Royal Society of Chemistry Paperbacks, (1988)
- 6.26 Bruker Almanac 2000
- 6.27 Handbook of Chemistry and Physics, 80nd Ed., (1999-2000)
- 6.28 **D. Hoffmann**, Dissertation im Fach Chemie an der Universität Duisburg, (2000)
- 6.29 **B.-Y. Zhu, G.-X. Zhao, J.-G. Cui**, 172-183, in "Phenomena in Mixed Surfactant Systems", Ed.: J. F. Scamehorn, American Chemical Society, (1985)
- 6.30 **D. O. Shah, K. S. Chan, R. M. Giordano** in "Solution Chemistry of Surfactants", 391-406, Vol. 1, Plenum Press New York London, (1979)
- 6.31 **M. Schönhoff, O. Söderman**, Magn. Res. Imaging, 16 ,683-685 ,(1998)
- 6.32 **N. J. Turro, M. Grätzel, A. M. Braun**, Angew. Chem., 92, 712-734, (1980)
- 6.33 **H. Hoffmann**, Progr. Colloid Polymer Sci., 65, 140-157, (1978)
- 6.34 **H. Hoffmann, R. Nagel, G. Platz, W. Ulbricht**, Colloid Polymer Sci., 254, 812-834, (1976)
- 6.35 **O. Söderman, P. Stilbs**, Progress in NMR Spectroscopy, 26, 445-482, (1994)
- 6.36 **M. Schönhoff, O. Söderman**, J. Phys. Chem. B, 101, 8237-8242, (1997)
- 6.37 Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Release 2001, 6th Ed
- 6.38 **M. Corti, V. Degiorgio**, J. Phys. Chem. 85, 711-715, (1981)
- 6.39 **D. Attwood, J.H. Collett, C.J. Tait**, in "Surfactants in Solution", 419-426, Ed.: K.L. Mittal, P. Bothorel, Plenum Press New York and London, (1984)
- 6.40 M. Apples, G. Fleischer, J. Kärger, A.C. Dieng, G. Riess, Macromolecules, 28, 2345-2350, 1995
- 6.41 Lei Zeng, E. O. Stejskal, Appl. Spectr. 50, 11, 1402-1407, 1996]

- 6.42 Handbook of Chemistry and Physics, 62nd (1981-1982)
- 6.43 D. Raftery, B.F. Chmelka: "Xenon NMR Spektroskopie", 30, 111-158, (1994) in "NMR Basic Principles and Progress", Ed.: P. Diehl, E. Fluck, H. Günther, R. Kosfeld, J. Seelig, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, (1994)
- 6.44 **J. Kärger**: Adv. Colloid Interface Sci, 23, 129-148, (1985)
- 6.45 **J. Kärger, D.M. Ruthvew**: "Diffusion in Zeolithes" John Wiley & Sons, Inc. New York, (1992)
- 6.46 **A. Abragam**: "The Principles of Nuclear Magnetism", Oxford University Press, London, (1961)
- 6.47 J. Kärger, H. Pfeiffer, W. Heink, Adv. Magn. Res. 12, 1988, 1
- 6.48 **P. T. Callaghan**: "Principles of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy", Oxford University Press, London 1991
- 6.49 **M.S. El-Samaligy, P. Rohdewald, H.A. Mahmoud**, J. Pharm. Pharmacol., 38, 216-218, (1986)

# Kapitel 7

# **Experimenteller Teil**

## 7.1 Präparative Arbeiten

# 7.1.1 Nanokapselsynthesen

Zur Synthese von Nanokapseln wurden zwei unterschiedliche Verfahren verwendet. Sie unterscheiden sich insbesondere bezüglich des pH-Werts ihrer organischen Phasen. Der in dieser Arbeit als klassische Synthese bezeichnete Herstellungsweg wird bei neutralem pH-Wert durchgeführt, wobei zunächst zwei Lösungen hergestellt werden <sup>7.1</sup>:

Organische Phase: 25 ml Ethanol

0,253 g n-Butylcyanoacrylat

1,89 ml Miglyol<sup>®</sup> 812 N

Wässrige Phase: 100 ml dest. Wasser

0,505 g Synperonic<sup>®</sup> PE / F68

Die hier als modifiziert bezeichnete Synthese verwendet folgende Lösungen 7.2:

Organische Phase:	25 ml 0,25 ml 0,253 g 1,89 ml	Ethanol HCl <sub>aq</sub> (c = 0,1 mol/l) n-Butylcyanoacrylat Miglyol <sup>®</sup> 812 N
Wässrige Phase:	95 ml 5 ml 0,505 g	dest. Wasser Phosphat-Puffer-Lösung, pH 6,88 / 0,025 mol/l Synperonic <sup>®</sup> PE / F68.

In beiden Fällen wird die organische Phase unter Rühren in die wässrige injiziert. Die Injektion erfolgt mit einer peristaltischen Pumpe, die eine Injektionsrate von 0,85 ml/min konstant einhält. Der verwendete *Overhead*-Rührer wird mit niedrigster Umdrehungszahl betrieben, wobei seine Rührerblätter senkrecht zur Strömungsrichtung stehen. Nach der Synthese wird die Dispersion im Wasserstrahlvakuum durch einen Glasfiltertiegel mit 10 - 16 µm großen Poren filtriert. Abschließend wird die Probe in einem Scheidetrichter mindestens 24 h gelagert um freie und nicht filtrierte Ölanteile durch deren Absetzen zu entfernen.

Im Laufe der Untersuchungen wurden mehrere Parameter der modifizierten Synthese variiert. Zur Beurteilungen des Einflusses der Scherkräfte verschiedener Rührertypen wurde die modifizierte Synthese bei verschiedenen Umdrehungsgeschwindigkeiten des Rührerwerks durchgeführt:

Rührwerk	Einstellung 1	Einstellung 2
Overhead-Rührer, Rührerblätter Senkrecht zur Strömungs- richtung	Minimale Drehzahl	Maximale Drehzahl
Magnetrührer, Teflonrührkern	Minimale Umdrehungs- geschwindigkeit	Mittlere Umdrehungs- geschwindigkeit

Weiterhin wurden die Ölmengenanteile in der organischen Phase variiert, wobei die Zusammensetzungen der wässrigen Phasen nicht verändert wurden. Nachfolgend sind die drei organischen Phasen beschrieben:

Ölanteil in % bzgl. der Standard- ansatzmengen 7.1	100	300	600	
Ölanteil in Vol% bzgl. Ethanolanteil	7,4	20	32	
Organische Phase	25 ml 0,25 ml 0,253 g 1,89 g	25 ml 0,25 ml 0,253 g 5,67 g	25 ml 0,25 ml 0,253 g 11,34 g	Ethanol HCl <sub>aq</sub> (c = 0,1 mol/l) n-Butylcyanoacrylat Miglyol <sup>®</sup> 812 N

#### 7.1.2 Emulsionen

Im Rahmen der Arbeit wurden Nanokapseldispersionen mit Emulsionen verglichen. Die Herstellung der Emulsionen ist der klassischen Synthesevorschrift angepasst. Hier wurde lediglich kein Monomer verwendet:

Organische Phase: 25 ml Ethanol

1,89 ml Miglyol<sup>®</sup> 812 N

Wässrige Phase: 100 ml dest. Wasser

0,505 g Synperonic<sup>®</sup> PE / F68

Auch die Dispersionsbedingungen stimmen mit denen der klassischen Synthese überein. Die Rührergeschwindigkeit wird auf kleinste Stufe gestellt, die Injektionsrate beträgt 0,85 ml/min. In der anschließenden Aufbereitung der Emulsionen wurden diese mit einem Filtertiegel der Porengröße 10 - 16 µm filtriert. Die Emulsionen wurden nur bei den Alterungsversuchen im Scheidetrichter gelagert, ansonsten unmittelbar nach der Synthese zur Analyse verwendet.

#### 7.1.3 Lösungen

Zusätzlich zu den Dispersionen wurde eine Tensidlösung hergestellt und dafür 0,505 g Synperonic<sup>®</sup> PE / F68 in 100 ml Wasser und 25 ml Ethanol gelöst. Zur Vorbereitung von Verdünnungsreihen wurden 25 ml Ethanol mit 100 ml Wasser

gemischt. Mit dieser Mischung wurden die Dispersionen und die Tensidlösung in den Verhältnissen 1:3 und 1:9 verdünnt.

Zur Messung der Diffusionskoeffizienten in Tensidlösungen mit Konzentrationen unterhalb der cmc wurden 30 mg Synperonic<sup>®</sup> PE / F68 in 1 l Wasser gelöst.

Für die Messung von Diffusionskoeffizienten von Ethanol und Miglyol wurden beide Komponenten in den Volumenverhältnissen 1000:1, 2:1, 1:2 und 1:1000 gemischt.

# 7.1.4 Beladung von Nanokapseln mit Ersatzwirkstoffen

Bei der Vorbereitung der Proben für die PFG-NMR Messungen von Austauschphänomenen an Benzol in Nanokapseldispersionen wurden Mengen im Milligrammbereich von Benzol in den Dispersionen gelöst. Bei größeren Mengen wurden besonders im Falle der Dispersionen der modifizierten Synthese Veränderungen wie eine Zunahme der Viskosität beobachtet. Hier wurden folgende Einwaagen verwendet:

 $m_{Dispersion nach klassische Synthese} = 4,2 g$ 

und  $m_{Benzol} = 19 \text{ mg},$ 

 $m_{Dispersion nach modifizierter Synthese} = 5.0 g$ 

und  $m_{Benzol} = 40 \text{ mg}.$ 

# 7.1.5 Verwendete Chemikalien und Apparaturen

Bei den Synthesen von Nanokapseldispersionen und Emulsionen sowie zur DNM und NMR wurden folgende Chemikalien verwendet:

Ethanol, >99,8 %

J. T. Baker

CDCl<sub>3</sub>, 99,80 % D

IC Chemikalien GmbH

H<sub>2</sub>O, destilliert

D<sub>2</sub>O, 99 % D

Aldrich Chemical Company, Inc.

Miglyol<sup>®</sup> 812 N Hüls AG

n-Butylcyanoacrylat (Sicomet® 6000) Sichel-Werke GmbH

Phosphat-Puffer-Lösung, pH 6,88/0,025 mol/l Merck AG

HCI-Lösung, 0,1 mol/l Riedel de Haen

Synperonic® PE / F68 Fluka

Trichloroctadecylsilan Aldrich Chemical Company, Inc.

Benzol, reinst J. T. Baker

Weiterhin wurden bei den Synthesen folgende Apparaturen verwendet:

Peristaltische Pumpe Alitea, Schweden

Overhead-Rührer Typ RW 18, Ika-Werk

Glasfiltertiegel POR 4, max. Porenweite 10-16 μm ROBU Glasfiltertiegel POR 5, max. Porenweite 1-1,6 μm ROBU

#### 7.2 DNM

#### 7.2.1 Zusammenstellung und Aufbau

### 7.2.1.1 Technische Ausstattung

Die *Dynamic Nanosizing Microscopy* verwendet folgende Komponenten:

Mikroskop: BIOLAR, 100 Watt Halogenbeleuchtung PZO

Objektiv 1: 10fach Vergrößerung, Apertur 0,24, achromatisch PZO

Objektiv 2: 40fach Vergrößerung, Wasserimmersion, LOMO

Apertur 0,75, achromatisch,

Kondensor: Typ Kardoid, Ölimmersion, Apertur 1,2-1,4 PZO

CCD-Kamera: KP-F1 E/K, effektiver Bildsensor: 782(H) · 582(H), Hitachi

Pixelgröße 8,3.8,3 µm

Framegrabber-Karte: Oculus F/64-DSP, 32 MByte DRAM Coreco

PC: Intel Celeron 700 MHz, 256 MB,

10 GByte Festplattenspeicher

### 7.2.1.2 Steuerungsprogramme

Zur Digitalisierung der Bilder werden die Daten von der CCD-Kamera kommend auf der *Framegrabber*-Karte gespeichert. Dort werden sie anschließend bearbeitet bzw. restauriert und nach einer Mustererkennung gespeichert. Die Steuerung dieser Vorgänge erfolgt mit einer besonderen Software, die die Bildverarbeitung und Kontrolle der *Framegrabber*-Karte ermöglicht. Die hier verwendete Version 3.3 des Programms picColor (Firma F.I.B.U.S. "Forschungsinstitute für Bildverarbeitung, Umwelttechnik und Strömungstechnik") arbeitet unabhängig vom PC Host mit dem Prozessor der *Framegrabber*-Karte. Dies ermöglicht u.a. konstante Geschwindigkeitsraten bei der Bildspeicherung während der Bildaufnahme.

Im picColor Programm können viele der Befehle aus den Kommandomenüs auch über Makros gesteuert werden. Diese Makros sind einfache Textdateien, die Befehle enthalten, welche mit den Makros abgearbeitet werden können. Die Bildrestaurationen werden ebenfalls in picColor mittels eines speziell programmierten Makros "SUB128" durchgeführt. Dieses lädt die zu restaurierenden Bilder einer Aufnahmereihe in den Speicher der *Framegrabber*-Karte und führt danach die Subtraktion durch, wie sie in Kapitel 5.3.2 erläutert wird. Zur Bildanalyse und Mustererkennung wird ein weiteres Makro (hier mit "MikSpez3" bezeichnet) in picColor verwendet, das die Informationen zu den Objektzentren in Textdateien speichert (siehe Kapitel 5.3.2).

Die Auswertung der Informationen der Mustererkennung erfolgt mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramms Microsoft<sup>®</sup> Excel 97. Hier werden die integrierten Programmierungsmöglichkeiten von Microsoft<sup>®</sup> Visual Basic zur Datenanalyse genutzt. Im Folgenden wird der Aufbau dieses Makros detailliert erläutert.

Das Makro öffnet zunächst die Dateien des Typ \*.Dat in einem neuen Tabellenblatt und markiert den gesamten Datenbereich. In diesem Bereich enthält die Datei untereinander aufgelistet für jedes Bild einer kompletten Bildsequenz die Objektpositionen, die nach der Mustererkennung gespeichert wurden. Die Prozedur speichert diese Daten in einer Feldvariable Bereich1 und schließt das Tabellenblatt:

```
Workbooks.Open TextFileName:="c:\info.Dat",

Origin:= _xlWindows, StartRow:=1, DataType:=xlDelimited,

TextQualifier:= _xlDoubleQuote, ConsecutiveDelimiter:=True,

Tab:=False, Semicolon:=False, _ Comma:=False,
```

```
Space:=True, Other:=False, FieldInfo:=Array(Array(1, 1),
_Array(2, 1), Array(3, 1), Array(4, 1))

Range("A1:D65000").Select

Bereich1 = Selection

ActiveWorkbook.Close
```

Nachdem die Daten auf diese Art zur Auswertung zugänglich gemacht wurden, wird zunächst nach unbewegten Partikeln gesucht (Stillstandskriterium). Für die Filterung dieser Partikel werden alle Positionen in den ersten fünf Bildern einer Bildsequenz miteinander verglichen. Die Feldvariable Track enthält die Startpositionen des ersten Bildes, wobei paarweise jede ungerade z5 und die nachfolgende gerade z6 Zeile eine Position ergeben. Die Anzahl an Objekten ist in der Variable CountTrack gespeichert. Werden in fünf aufeinander folgenden Bildern sich wiederholende Positionen erkannt, so werden diese in die Out Feldvariable eingetragen:

```
For zFilt = 1 To 5
  Do
     z1 = z1 + 1
  Loop Until Bereich1(z1, 1) = "A"
  For z3 = 1 To CountTrack
     z6 = z5 + 1
     For z4 = 1 To Bereich1(z1, 2)
        z4H = z4 + z1
        Distanz = ((Track(z5, 2) - Bereich1(z4H, 2)) ^ 2 + (Track(z6, 2) -
                                                 Bereich1(z4H, 3)) ^ 2) ^ 0.5
        If Distanz = 0 Then
          DistCount(z3) = DistCount(z3) + 1
        End If
     Next z4
     If DistCount(z3) = 5 Then
        Track(z5, 1) = 0
        Track(z6, 1) = 0
        z8 = z8 + 1
        Out(z8) = Track(z5, Sp1)
        z8 = z8 + 1
        Out(z8) = Track(z6, Sp1)
     End If
     z5 = z5 + 2
  Next z3
  z5 = 1
Next zFilt
```

Die Filterung findet ergänzend zu der Bildrestauration statt, bei der auch unbewegte Objekte aus dem Bild entfernt werden. Die Filterung wird während der Auswertung einer Filmsequenz bei jedem neu gefundenen Objekt angewendet, um dieses bei Stillstand aus der Track Liste zu entfernen. Hierdurch wird die Auswertung aller anderen Partikel erleichtert, weil die Anzahl der zu vergleichenden Objekte während des *Motion Tracking* verringert wird. Aus messtechnischer Sicht beschreibt dieser Programmteil Erschütterungen, die während der Aufnahme auftraten, und die dadurch entstehenden Verschiebungen im Bildausschnitt. Dabei muss man sich vorstellen, dass das bei einem Bildversatz aktuelle Bild nicht mehr exakt über dem zu subtrahierenden Referenzbild liegt. So entstehen helle Ränder, die als Objekte klassifiziert werden (siehe auch Abschnitt 5.3.2). Wenn während der Filmaufnahme Partikel an den Wänden adsorbiert werden und sich anschließend ihre Positionen nicht mehr verändern, dann filtert diese Prozedur diese Teilchen aus der Track Liste heraus.

Im nachfolgenden Teil des Programms wird das *Motion Tracking* beschrieben. Dabei werden alle Distanzen berechnet, die sich zwischen den Positionen in der Trackliste und den Positionen in den fortlaufenden Bildern ergeben. Die Position der nächstliegenden Objekte zu einer Position in der Track Liste wird in dieser Liste angefügt und der Index z4 des angefügten Objekts vermerkt. Auf diese Weise werden alle Positionen aus einer Bildsequenz Bild für Bild in der Track Liste ergänzt. Der Index z4 entstammt der durchnummerierten Aufzählung der Objektpositionen des gewählten Bildes, also der Anzahl an Objekten in diesem Bild. Aus dem Programmteil wurde der Abschnitt der Filterung von unbewegten Objekten (Stillstandskriterium) zur besseren Übersicht entfernt:

```
For z3 = 1 To CountTrack
    z6 = z5 + 1
    If Track(z6, 1) = 1 Then
      For z4 = 1 To Bereich1(z1, 2)
         z4H = z4 + z1
         Distanz = ((Track(z5, Sp1) - Bereich1(z4H, 2)) ^ 2
                              + (Track(z6, Sp1) - Bereich1(z4H, 3)) ^ 2) ^ 0.5
         If Distanz < DistVer(z3, 1) And BereichH(z4) = 0 Then
            DistVer(z3, 1) = Distanz
            DistVer(z3, 2) = z4
         End If
      Next z4
      z4H = DistVer(z3, 2) + z1
      If Track(z5, 1) = 1 Then
         Track(z5, Sp2) = Bereich1(z4H, 2)
         Track(z6, Sp2) = Bereich1(z4H, 3)
      End If
      If DistVer(z3, 1) = 0 Then
         DistCount(z3) = DistCount(z3) + 1
```

```
Else
DistCount(z3) = 0
End If
(an dieser Stelle erfolgt die Filterung unbewegte Objekte)
Else
DistVer(z3, 2) = 0
End If
z5 = z5 + 2
Next z3
```

Nach der Zuweisung einer Liste von aktuellen Objektpositionen in einem Bild werden vor der nächsten Zuweisung eine Reihe von Prüfungen durchgeführt, wie sie bereits in Kapitel 5.3.3 erläutert wurden (Zuordnungskriterium). Zunächst werden anhand der Indizes z4, welche im vorherigen Programmteil in der Track Liste eingetragen wurden, nach doppelten Zuweisungen von Positionen in der Track Liste zu einer aktuellen Bildposition gesucht. Wird dies registriert, so werden beide betroffenen Positionen in der Track Liste mit dem Befehl Track(z5, 1) = 0 (x-Koodinate) bzw. Track(z6, 1) = 0 beendet:

```
For z3 = 1 To CountTrack
    z6 = z5 + 1
    If DistVer(z3, 2) > 0 Then NotizGes(DistVer(z3, 2)) = 1
    If Track(z6, 1) = 1 Then
      For z4 = 1 To CountTrack
         If DistVer(z3, 2) = DistVer(z4, 2) And z3 <> z4 Then
            'If DistVer(z3, 1) > DistVer(z4, 1) Then
               Track(z5, 1) = 0
               Track(z6, 1) = 0
            'End If
         End If
      Next z4
    End If
    If Track(z5, 1) = 1 Then
      Track(z5, 0) = Track(z5, 0) + 1
      Track(z6, 0) = Track(z6, 0) + 1
    End If
    z5 = z5 + 2
 Next z3
```

In der nächsten Prozedur werden alle Spuren der Track Liste beendet, die keine Zuweisung zu einem Objekt im nachfolgenden Bild erhalten haben:

```
For z3 = 1 To z6 = z5 + 1

If Track(z5, 1) = 0 Then

Track(z5, Sp2) = 0

Track(z6, Sp2) = 0

End If
```

```
z5 = z5 + 2
Next z3
```

Zum Abschluss der *Motion Tracking* Prozedur werden alle Objekte des nächsten Bildes, die nicht zu einer Position in der Track Liste zugewiesen werden konnten, als neue Objekte in der Track Liste angefügt. Dabei kommt erneut die Out Feldvariable zur Anwendung, mit deren Hilfe Positionsdaten aller neuen Objekte auf Übereinstimmungen mit unbewegten Positionen überprüft werden:

```
For z3 = 1 To Bereich1(z1, 2)
   If NotizGes(z3) = 0 Then
      OutH = 0
      zDo1 = 1
      zDo2 = 0
      z3H = z3 + z1
      While zDo2 < z8
                            'OutH = 0 Or
         zDo2 = zDo1 + 1
         If Bereich1(z3H, 2) = Out(zDo1) And Bereich1(z3H, 3) = Out(zDo2)
                                                                         Then
           OutH = 1
         End If
         zDo1 = zDo1 + 2
      Wend
      If OutH = 0 Then
         CountTrack = CountTrack + 1
         PosY = CountTrack * 2
         PosX = PosY - 1
         z4 = z3 + z1
         Track(PosX, Sp2) = Bereich1(z4, 2)
         Track(PosY, Sp2) = Bereich1(z4, 3)
         Track(PosX, Sp1) = -1
         Track(PosY, Sp1) = -1
         Track(PosX, 1) = 1
         Track(PosY, 1) = 1
      End If
   End If
 Next z3
```

Dieser Programmablauf wird für die Informationen eines jeden Bildes einer Bildsequenz wiederholt. Nachdem die Bildsequenz auf diese Weise analysiert wurde, wird eine neue Datei des Typs \*.Dat mit Positionsdaten geöffnet und ausgewertet.

Vor der Berechnung der Partikelradien aus den einzelnen Spuren müssen zunächst die mittleren Verschiebungsquadrate DisQu1 in x-Richtung und DisQu2 in y-Richtung berechnet werden. Die folgende Prozedur verwendet dazu einen Kalibrationswert CaliValue mit dessen Hilfe aus den Pixelpositionen Distanzen mit

Mikrometereinheiten berechnet werden können. Weiterhin wertet sie nur Spuren aus, die sich aus mehr als einem Bewegungsschritt zusammensetzen. Die einzelnen mittleren Verschiebungsquadrate in x- und in y-Richtung aller Spuren sowie die Anzahl ihrer zusammenhängenden Bewegungsschritte werden schließlich in der Feldvariable DisQuFeld gespeichert:

```
For y1 = 1 To CountTrack
  y6 = Y5 + 1
  If Track(Y5, 0) > 0 Then
     y2 = 1
     Do
        y2 = y2 + 1
     Loop Until Track(Y5, y2) > 0
     yEnd = y2 + Track(Y5, 0)
     y2 = y2 + 1
     For y3 = y2 To yEnd
        y3H = y3 - 1
        DisQu1 = DisQu1 + (CaliValue * (Track(Y5, y3) - Track(Y5, y3H))) ^ 2
        DisQu2 = DisQu2 + (CaliValue * (Track(y6, y3) - Track(y6, y3H))) ^ 2
     Next v3
     If DisQu1 > 0 And DisQu2 > 0 And Track(Y5, 0) > 1 Then
        DisQuCounter = DisQuCounter + 1
        DisQu1 = DisQu1 / Track(Y5, 0)
        DisQuFeld(DisQuCounter, 1) = DisQu1
        DisQu1 = 0
        DisQu2 = DisQu2 / Track(y6, 0)
        DisQuFeld(DisQuCounter, 2) = DisQu2
        DisOu2 = 0
        DisQuFeld(DisQuCounter, 3) = Track(Y5, 0)
     End If
  End If
  Y5 = Y5 + 2
Next y1
```

Hier wird die Auswertung nach dem *Motion Tracking* unterbrochen, die mittleren Verschiebungsquadrate werden in einem Excel-Tabellenblatt zwischengespeichert. Der nächste Teil des Makros befasst sich mit der Berechnung der Radien, unter Berücksichtigung der Zunahme des Widerstands bei Bewegungen in der Nähe von Wänden (siehe Kapitel 5.3.3). Die Daten aus der Feldvariable DisQuFeld des *Motion Trackings* wurden hier in die Feldvariable Bereich zuvor neu eingelesen. Im zentralen Teil der Prozedur wird der Partikelradius über die Einsteinsche Gleichung berechnet und anschließend iterativ über die Gleichung 5.13 nach I. Nordlund bezüglich der Wandwirkungen korrigiert. Weitere Größen in dieser Prozedur sind EtaConst (Viskosität der Partikelumgebung bei der jeweiligen Messtemperatur TempK), NA

(Avogadrosche Konstante), Time (Zeit zwischen zwei Bildern), Distance (Abstand der Wände) und SumCurParNum1 (Anzahl an Elementen bzw. Objekten):

```
h = 0
Do
 h = h + 1
 DisQu2(h, 1) = Bereich(h, 1)
  DisQu2(h, 2) = Bereich(h, 2)
 DisQu2(h, 3) = Bereich(h, 3)
 If DisQu2(h, 1) > 0 Or DisQu2(h, 2) > 0 Then
     Delta2 = (DisQu2(h, 1) + DisQu2(h, 2)) / 2
     Eta = EtaConst
     For I = 1 To 10 Step 1
        Radi1 = (R * TempK * Time) / (3 * Pi * Eta * NA * Delta2)
        Control = 16 * Distance / 7
        If Control > Radi1 Then
          Control = ((9 * Radi1 * ((16 * Distance) + (9 * Radi1)))
                   / (16 * (Distance - (2 * Radi1)) * ((8 * Distance) +
                   (9 * Radi1)))) * (Log(((16 * Distance) - (7 * Radi1))
                   / (25 * Radi1))))
          If Control < 1 Then
             ix = 1 - Control
             Eta = EtaConst / ix
          End If
        End If
     Next I
     Radii(h, 1) = Radi1
     Radii(h, 2) = DisQu2(h, 3)
     Radii(h, 1) = 0
     Radii(h, 2) = DisQu2(h, 3)
Loop Until h = SumCurParNum1
```

Die Feldvariable Radii enthält nun alle gefunden Radien. Abschließend werden aus diesen Histogramme berechnet und in Excel-Tabellen dargestellt.

#### 7.2.1.3 Probenvorbereitung

Zur Messung an wässrigen Dispersionen werden in dieser Arbeit Deckgläser und Objektträger mit hydrophoben Oberflächen verwendet. Diese Materialen sind über den Handel nicht zu beziehen und werden deshalb selbst hergestellt <sup>7.3</sup>. Die Erfahrung zeigte, dass erst durch die Verwendung dieser speziellen Gläser die korrekte Messung der Radien von Nanopartikeln möglich ist. Durch die hydrophoben Oberflächen werden die anziehenden Wechselwirkungen zwischen den Partikeln und

den beiden Glasoberflächen minimiert. Alle anfänglichen Messungen mit unbeschichteten Gläsern ergaben Radienwerte, die rund 20 % über den Werten der Messungen mit beschichteten Gläsern liegen. Eine Kalibration anhand dieser Messungen war nur möglich, wenn im Auswertungsprogramm bei der Angabe der gemessene Raumtemperatur dieser Wert rechnerisch um 5 bis 10 °C abgesenkt wurde.

Vor dem Beschichten wurden die Objektträger und Deckgläser mit konzentrierter Schwefelsäure gereinigt. Anschließend wurden unter einer trockenen Atmosphäre in einer Handschuhbox die Glasoberflächen mit Trichloroctadecylsilan benetzt. Danach wurden die Gläser mindestens 12 h in der trockenen Umgebung gelagert. Während dieser Zeit reagieren die polaren OH-Gruppen der Oberfläche unter Abspaltung von HCI mit der SiCl<sub>3</sub>-Gruppe des Silans. Dabei wird die polare Oberfläche des Glases durch die unpolaren organische Alkylketten verdeckt (siehe Abbildung 7.1).

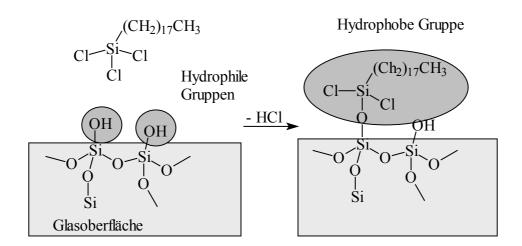
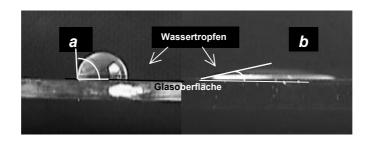


Abb. 7.1: Chemischer Vorgang bei der Beschichtung der Glasoberflächen.

In fotografischen Aufnahmen kann die Wirkung dieser hydrophoben Oberfläche auf einen aufliegenden Wassertropfen gezeigt werden (siehe Abbildung 7.2). Der hydrophile Charakter der Oberfläche wird hier über den Randwinkel eines benetzenden Wassertropfen auf der Oberfläche dargestellt. Im Bild a beträgt der Randwinkel über 90° und im Bild b max. 20°, wodurch belegt wird, dass die Oberfläche in Bild a sich deutlich schlechter mit Wasser benetzen lässt. Zusätzlich zur Verwendung dieser speziell präparierten Gläser wurden noch weitere Vorbereitungen vor den Messungen durchgeführt. Die hochkonzentrierten Dispersionen wurden zunächst so stark mit destilliertem Wasser verdünnt, dass die Trübung kaum noch erkennbar ist.



**Abb. 7.2:** Fotografische Aufnahmen zur hydrophoben Wirkung von mit Trichloroctadecylsilan beschichteten (a) und unbeschichteten (b) Glasoberflächen.

Danach wurden sie für etwa 30 min im Wasserstrahlvakuum entgast. Von den entgasten Proben wurden einzelne Tropfen auf die Objektträger gegeben und mit dem Deckglas angedrückt. Abschließend wurden die Ränder der aufliegenden Deckgläser mit flüssigem Kerzenwachs versiegelt.

Das Entgasen der Proben stellt hierbei sicher, dass keine Luftbläschen in der Probe die Partikel umgeben können. Von dem Einfluss auf den hydrodynamischen Radius durch solche Lufteinschlüsse wurde in einer vorangegangenen Arbeit berichtet <sup>7,4</sup>. Auch das Verschließen mit Wachs wurde in jener Arbeit entwickelt und dient dem Zweck, störende Strömungen durch Austrockungserscheinungen am Rand der Deckgläser zu vermeiden.

Zusätzlich zu diesen Maßnahmen wird noch ein besonderer IR-Filter in den Strahlengang der Mikroskopbeleuchtung eingebaut, der aus einer mit Wasser gefüllten Küvette besteht. Es darf angenommen werden, dass das Wasser mit etwa 5 cm Schichtdicke den erwärmenden infraroten Lichtbestand weitestgehend herausfiltert. Jede unregelmäßige Erwärmung der Probe während der bis zu 45 min andauernden Messung würde das Ergebnis der Messungen verfälschen.

#### 7.2.2 Kalibration und das Verfahren der Messung

Bei allen Messungen mit der DNM Methode wurden folgende Parameter verwendet:

Bildgröße: 240 x 240 Pixel

Aufnahmerate: 25 Bilder/s (Bildfrequenz = 0,04 1/s)

Anzahl der Bilder pro Sequenz: 218

CCD-Kamera:

Helligkeit: 127

Kontrast: 0

Grauschwellenwert: 135

Zwei weitere Parameter des DNM-Systems müssen vor der allgemeinen Verwendung der Methode durch spezielle Messungen kalibriert werden. Zunächst wird hier der Maßstab der durch die CCD-Kamera gelieferten Bildern bestimmt. Dazu wird eine geeichte Durchlichtobjektmikrometerskala der Firma Leitz Wetzlar GmbH verwendet, die eine Skalierung von 200 Teilen auf 2 mm besitzt. Der gemessene Kalibrationswert CaliValue, der beim Auswertungsmakro benötigt wird, liegt bei einer 40fachen Objektivvergrößerung bei:

CaliValue =  $0,1587 \mu m/pixel$ .

(† laut Hersteller durch TEM ermittelt)

Das zweite zu kalibrierende Element der DNM-Methode ist die Messtemperatur, die von der Umgebungstemperatur aufgrund der starken Beleuchtung und damit verbundenen Erwärmung des Objekts abweichen kann. Für diese Kalibration werden drei Polystyrol-Partikelstandards mit bekannten Radien und schmalen Größerverteilungen gemessen:

Radius =  $51 \pm 2$  nm<sup>†</sup>,  $\delta$  = 1,00 - 1,05 g/ml Duke Scientific Corporation Radius =  $120 \pm 3$  nm<sup>†</sup>,  $\delta$  = 1,00 - 1,05 g/ml Duke Scientific Corporation Radius =  $202 \pm 2$  nm<sup>†</sup>,  $\delta$  = 1,00 - 1,05 g/ml Duke Scientific Corporation

Bei den Messungen wurde zunächst die Raumtemperatur als Temperatur der Probe angenommen. Danach wird die Auswertung (Berechnung der Radien aus den mittleren Verschiebungsquadraten, siehe Anhang) unter der Eingabe einer anderen z.B. höheren Temperatur wiederholt. Folgende Ergebnisse und sich daraus ergebende Kalibrationswert wurden ermittelt:

Herstellerangabe: Partikelradius	Herstellerangabe: Standard- Abweichung	Meßergebnis: Standard- abweichung	Temperaturabweichung von der Raumtemperatur
51 nm	2 nm	6,4 nm	4 °C
120 nm	3 nm	10,9 nm	8,5 °C
202 nm	2 nm	17,9 nm	7,5 °C
Mittlere Temperatur, Kalibrationswert:			6,67 °C

Die Ergebnisse der Kalibrationen zeigen, dass die Temperatur in der Probe um 4 bis 8,5 °C während der Messung über der Umgebungstemperatur liegt. Über die Gründe für die Unterschiede zwischen gemessenen und vorgegebenen Standardabweichungen wird in Kapitel 6.1.2 diskutiert.

# 7.2.3 Messungen an Dispersionen

Die Messung einer bimodalen Verteilung zur Überprüfung der Genauigkeit des DNM-Systems im Bezug auf die Wiedergabe von quantitativen Informationen erfolgt an einer Mischung aus zwei Polystyrol-Partikelstandards.

Die Originaldispersionen wurden in folgendem Volumenverhältnis gemischt:

120 nm Standard / 202 nm Standard = 1 / 3.

Die Massenanteile beider Standards betragen laut Hersteller 2%. Daraus ergeben sich bei einer Partikeldichte von 1 g/l folgende Konzentrationen:

$$C_{120 \text{ nm Standard}} = 1,382 \cdot 10^{17} \text{ Teilchen / I,}$$

$$C_{202 \text{ nm Standard}} = 2,896 \cdot 10^{16} \text{ Teilchen / I}$$
.

Bei den obigen Volumenverhältnissen für die Mischung errechnet sich damit ein Teilchenverhältnis in der Mischung von

120 nm Standard / 202 nm Standard = 1,6 / 1.

Bei der DNM-Messung dieser Mischung lagen folgende Messparameter vor:

Messtemperatur	Schichtdicke	Anzahl an Filmsequenzen
24 °C	4 μm	30

Im Falle der Nanokapseln wurde zunächst eine Messung für den Vergleich mit den Methoden der DLS und AUZ durchgeführt. Die Nanokapseldispersion wurde dazu nach der modifizierten Synthese mit den ursprünglichen Anteilen der Komponenten hergestellt. Folgende Messparameter wurden aufgenommen:

Messtemperatur	Schichtdicke	Anzahl an Filmsequenzen
22,8 °C	7 μm	30

Die DNM-Messungen zur Klärung des Einflusses unterschiedlicher Scherkräfte auf die Entstehung von Nanokapseln wurde an Dispersionen durchgeführt, die nach der modifizierten Synthesevorschrift hergestellt wurden. Nachfolgende Parameter wurden notiert:

<u>Probe</u>	Messtemperatur	Schichtdicke	Anzahl an Filmsequenzen
Synthese mit Rührkern (langsam)	24,3 °C	13 μm	30
Synthese mit Rührkern (schnell)	25,4 °C	4,5 μm	30
Synthese mit Rührblättern (langsam)	23 °C	5 μm	30
Synthese mit Rührblättern (schnell)	22,8 °C	7 μm	30

Die Messung der Größenverteilung an Nanokapseldispersionen, die mit verschiedenen Ölmengen bei der Synthese entstehen, wurde mit folgenden Parametern durchgeführt:

<u>Probe</u>	Messtemperatur	Schichtdicke	Anzahl an Filmsequenzen
100 % Miglyol	22,8 °C	7 µm	30
300 % Miglyol	22,8 °C	2,5 µm	30
600 % Miglyol	22,5 °C	10 μm	30

Für den Vergleich der Größenverteilungen von Nanokapseln nach modifzierter und klassischer Synthesevorschrift wurden zwei Proben gemessen, deren Komponentenanteile den jeweiligen ursprünglichen Vorschriften entsprechen. Die Messparameter sind:

<u>Probe</u>	Messtemperatur	Schichtdicke	Anzahl an Filmsequenzen
Modifizierte Synthese	22,8 °C	7 μm	30
Klassische Synthese	22,1 °C	10 µm	30

Abschließend wurden zwei Reihen von Alterungsversuchen aufgenommen, wobei hierfür eine Nanokapseldispersion nach modifizierter Versuchsvorschrift und eine Emulsion anhand der Beschreibung aus Abschnitt 7.1.2 hergestellt wurde. Bei den DNM-Messungen wurden folgende Parameter aufgenommen:

<u>Probe</u>	Messtemperatur	Schichtdicke	Anzahl an Filmsequenzen
Nanokapseln 4 h alt	24,5 °C	6 µm	30
Nanokapseln 31 d alt	24,5 °C	6,5 µm	30

<u>Probe</u>	Messtemperatur	Schichtdicke	Anzahl an Filmsequenzen
Nanoemulsion 4 h alt	24,5 °C	6,5 µm	30
Nanoemulsion 20 h alt	24 °C	5 μm	30
Nanoemulsion 20 d alt	24,8 °C	25 μm	30

#### 7.3 PFG-NMR

# 7.3.1 Voruntersuchungen

Vor der Verwendung von PFG-Pulsprogrammen müssen verschiedene Parameter des zu untersuchenden Systems bekannt sein. So ist es hier notwendig, die  $T_{1^-}$  und  $T_{2^-}$ Relaxationszeiten der verschiedenen  $^1$ H-Kernspins in der Dispersion zu messen, um die Parameter im PFG Pulsprogramm richtig einstellen zu können. Tabelle 7.1 enthält die  $T_{1^-}$  und  $T_{2^-}$ Relaxationszeiten der einzelnen Komponenten in einer Nanokapseldispersion, die nach dem klassischen Syntheseverfahren hergestellt wurde. Zur Messung der  $T_{1^-}$ Zeiten wurde ein hochauflösender Breitbandmesskopf und das *Inversion-Recovery* Pulsprogramm verwendet  $^{7.5}$ . Für die Messung der  $T_{2^-}$ Zeiten wurde derselbe Messkopf und das Carr-Purcell-Meiboom-Gill- (CPMG)-Pulsprogramm verwendet  $^{7.5}$ . Alle Messungen wurden bei 25  $^{\circ}$ C und mit einer 90 $^{\circ}$  Pulsdauer von 13,3  $\mu$ s durchgeführt.

**Tabelle 7.1:**  $T_1$ - und  $T_2$ <sup>entrop</sup>-Relaxationszeiten in Nanokapseldispersionen:

Tabelle 1.1. 11- und 12 - Nelaxationszeiten in Nanokapseidispersionen.				
<u>Komponente</u>	Chemische Verschiebung	T₁-Zeit	T <sub>2</sub> <sup>entrop</sup> -Zeit	
Wasser	4,8 ppm	0,796 s	0,091 s	
Ethanol	3,7 ppm	3,910 s	2,20 s	
Ethanol	1,1 ppm	3,781 s	2,48 s	
Synperonic® PE / F68	3,7 ppm	0,538 s	*1	
Miglyol <sup>®</sup> 812 N	2,1 ppm	0,628 s	≈ 200 ms	

<sup>\*1:</sup> Aufgrund der Überlappung mit dem benachbarten Ethanolsignal nicht bestimmbar.

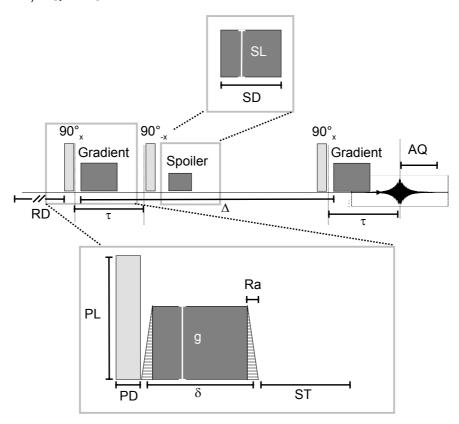
#### 7.3.2 Gradientenkalibration

Die voreingestellten Kalibrationswerte der Herstellerfirma Bruker wurden an reinem Wasser überprüft. Aus acht Einzelmessungen bei 25 °C wurde für die Selbstdiffusionskonstante ein Mittelwert von  $2,30 \cdot 10^{-9} \pm 2 \cdot 10^{-11}$  m²/s errechnet, der sehr gut mit dem Literaturwert von  $2,3 \cdot 10^{-9}$  m²/s übereinstimmt <sup>7.6</sup>.

# 7.3.3 Pulsprogramm

Bei den PFG Messungen wurde die *Stimulated Echo* Pulsfolge verwendet. In Abbildung 7.3 werden die wichtigsten Parameter des Experiments dargestellt und beschrieben. In den allgemeinen Einstellungen dieser Pulsfolge wurden bei allen Messungen folgende Werte gewählt:

$$\tau$$
 = 5,24 ms, Ra = 0,2 ms, SD = 0,5 ms, SL = 0,2 T/m, RD = 12 s, PL = -1. AQ = 2 s.



**Abb. 7.3:** PFG-NMR Stimulated Echo Pulsfolge mit: Diffusionszeit  $\Delta$ , Echozeit  $\tau$ , Gradientenpulslänge  $\delta$  und –stärke g, Rampenlänge Ra, Stabilisationszeit ST, Spoilerlänge SD und –stärke SL, Recycle Delay RD, RF-Pulslänge PD und RF-Power Level PL und Akquisitionszeit AQ.

Alle weiteren Parameter werden im nächsten Abschnitt 7.3.3 bei den jeweiligen Experimenten aufgeführt. In den Experimenten wurden jeweils 4 *Scans* und 2 *Dummy-Scans* und mindestens 2 *Repetitions* durchgeführt. Nur mit der Einstellung von 4 *Scans* wurde eine optimale Unterdrückung von Phasenfehlern erreicht. Die *Receiver-Gain* wurde vor jedem Experiment individuell bestimmt.

# 7.3.4 Durchgeführte Messungen

# H<sub>2</sub>O (Kapitel 6.4):

Versuchsname	Δ	g	δ	ST	PD	
Messung von D in einer Dispersion (modifizierte Synthese):						
pc61mw12	oc61mw12 25 ms 0-2 T/m 2,0 ms 1,3 ms			1,3 ms	8,17 µs	

# Tensid Synperonic® PE / F68 (Kapitel 6.5):

Versuchsname	Δ	g	δ	ST	PD			
Messung von D b	Messung von D bei c <cmc:< td=""></cmc:<>							
pc41mw05	25 ms	1-4 T/m	2,0 ms	3,0 ms	7,75 µs			
Messung von D b	Messung von D bei c>>cmc:							
pc61mw01	25 ms	1-4 T/m	2,0 ms	3,0 ms	8,40 µs			
Messungen von D in einer Dispersionsverdünnungsreihe (modifizierte Synthese):								
pc71mw03	25 ms	0-4 T/m	2,0 ms	2,0 ms	8,18-8,28 µs			

# Miglyol (Kapitel 6.6):

Versuchsname	Δ	g	δ	ST	PD		
Messung von D in reinem Miglyol:							
mih0201	40 ms	1-8 T/m	1,0 ms	3,0 ms	8,00 µs		

Versuchsname	Δ	g	δ	ST	PD	
Messung von D in einer Dispersion (klassischer Synthese):						
pc31mw02/04	6, 7, 8, 9,	0-8 T/m	2,0 ms	3,0 ms	8,00 µs	
	10, 12, 18,					
	24, 36, 60					
	ms					

# Ethanol (Kapitel 6.7):

Versuchsname	Δ	g	δ	ST	PD	
Messung der Ech	ozerfallsk	kurve in einer Disper	sion (modifizi	erte Synthese	e):	
pc61mw13	30 ms	0-0,7 / 0,7-8 T/m	3,0 ms	2,0 ms	8,18 µs	
Messung der Ech	Messung der Echozerfallskurve in einer Dispersion (klassische Synthese):					
pc61mw15 30 ms 0-0,7 / 0,7-8 T/m 3,0 ms			3,0 ms	2,0 ms	8,13 µs	
Messung der Echozerfallskurve in einer Nanoemulsion:						
pc61mw14	30 ms	0-0,7 / 0,7-8 T/m	3,0 ms	2,0 ms	8,48 µs	

# Mischungreihe Ethanol Miglyol (Kapitel 6.7):

Versuchsname	Δ	g	δ	ST	PD		
Messung von D von Ethanol und Miglyol:							
pc60mw01	12 ms	0-4 T/m	2,0 ms	3,0 ms	9,07 µs		

# Benzol (Kapitel 6.8):

Versuchsname	ne $\Delta$ g $\delta$		δ	ST	PD			
Messung der Echozerfallskurve in einer Dispersion (modifizierte Synthese):								
pc81mw08	50,100,150,200 ms	0-0,7 / 0,7-5,9 T/m	3,0 ms	2,0 ms	8,37 µs			

Versuchsname	Δ	g	δ	ST	PD		
Messung der Echozerfallskurve in einer Dispersion (klassische Synthese):							
pc81mw09	50,100, 150,200 ms	0-0,7 / 0,7-5,9 T/m	3,0 ms	3,0 ms	8,05 µs		
	100,200 1113	17111					

#### 7.3.5 Verwendete Instrumente

Die PFG-Messungen wurden an einem hochauflösenden Flüssigkeitsspektrometer Avance 500 der Firma Bruker durchgeführt. Das Spektrometer ist mit einem Diff30-Probenkopf mit einer 5 mm <sup>1</sup>H-NMR Spule ausgestattet und erreicht eine maximale Gradientenstärke von 12 T/m bei einer Gradientpulslänge von bis zu 5 ms. Die Magnetfeldgradienten im Probenkopf werden durch einen BAFPA-40-Gradientenverstärker erzeugt.

Zur Vermeidung von störenden Einflüssen durch *Eddy Current Delays* nach Abklingen des Gradientpulses wurden die Preemphasis-Einstellungen so gewählt, dass spätestens 1 ms nach dem Puls die Störungen nicht mehr beobachtbar sind.

Bei allen hier durchgeführten Experimenten wurde eine Messtemperatur von 25 °C eingehalten.

#### 7.4 AUZ und DLS

Die AUZ-Messungen an Nanokapseldispersionen wurden bei der Firma BASF AG mit einer modifizierten Analytischen Ultrazentrifuge des Models E der Firma Beckmann Inc. durchgeführt. Die genaue Instrumentierung wird in der Literatur beschrieben <sup>7,7</sup>.

Bei den DLS-Messungen wurde ein *Submicron Particle Sizer* Modell 370 der Firma Nicomb PSS verwendet. Die Messungen wurden am Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung in Potsdam durchgeführt.

# 7.5 Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentrationen

Zur Messung der cmc wurde hier die Blasendruckmethode verwendet <sup>7.8</sup>. Die Einwaage des Tensids lag zwischen 0 und 4 g/l in einer Mischung aus 80 % Wasser und 20 % Ethanol. Die Messtemperatur betrug 25 °C. Jeder Wert der Oberflächenspannung wurde aus drei Einzelwerten ermittelt. Aufgrund der niedrigen Oberflächenspannung durch das gelöste Ethanol sind die Differenzen in den Werten der Oberflächenspannung bei den verschiedenen Konzentrationen relativ gering. Dadurch nimmt die Bedeutung des Ablesefehlers zu und die Fehlerbalken, wie sie in Abbildung 6.13 eingezeichnet sind, werden dementsprechend groß.

# Literatur:

- 7.1 N. Al Khouri Fallouh, L. Roblot-Treupel, H. Fessi, J. Ph Devissaguet, F. Puisieux Int. J. Pharm., 28, 125-132, (1986)
- 7.2 **M. Wohlgemuth, W. Mächtle, C. Mayer**, J. Microencapsulation, 17, 4, 437-448, (2000)
- 7.3 **W. Schaetl, H. Sillescu**, J. Colloid Interface Sci., 155, 313-318, (1993)
- 7.4 **M. Wohlgemuth**: "Optimierung der Synthese von Nanokapseln und deren Größenbestimmung mittels der Durchlicht-Dunkelfeldmikroskopie"

  Diplomarbeit Universität Duisburg, (1997)
- 7.5 **S. Braun, H.-O. Kalinowski, S. Berger**: "150 and More Basic NMR Experiments", Wiley-VCH, Weinheim, (1998)
- 7.6 **M. Vogt**, Dissertation am Institut für Physikalische und Theoretische Chemie an der Universität Duisburg, (2001)
- 7.7 **W. Mächtle**: "Analysis of polymer dispersions with a 8-cell-AUC-multiplexer: high resolution particle size distribution and density gradient techniques" in Analytical Ultrazentrifugation in Biochemistry and Polymer Science, Dd.: S. E. Harding, A. J. Rowe, J. C. Horton, Cambridge: Royal Society of Chemistry, 147-175, (1992)
- 7.8 **W. Sutter**, Praktikumsskript für Anfänger, Institut für Physikalische und Theoretische Chemie der Universität Duisburg (1997)

## Kapitel 8

# Zusammenfassung

Im Mittelpunkt dieser Arbeit steht der Vergleich zweier analytischer Methoden: der Dynamic Nanosizing Microscopy (DNM) und der Pulsed Field Gradient (PFG) -NMR Spektroskopie. Beide Methoden sind auf die Beobachtung der Selbstdiffusion ausgerichtet, woraus sich Diffusionskoeffizienten und damit Partikelgrößen ableiten lassen. Obwohl sich die Messverfahren deutlich unterscheiden, gelangen beide Methoden bei der Messung von Diffusionskoeffizienten an dem vorliegenden System zu nahezu identischen Ergebnissen. Wie die Vergleichsmessungen mit der Analytischen Ultrazentrifuge (AUZ) und der Dynamischen Lichtstreuung (DLS) belegen, stimmen darüber hinaus die gefundenen Partikelgrößen ausgezeichnet mit den Ergebnissen dieser anerkannten Verfahren überein. Der Anwendungsspielraum beider Methoden geht weit über die reine Bestimmung von Radien hinaus. Die DNM-Methode bietet der Kolloidchemie neue Möglichkeiten bei der Messung von Prozessen im Millisekundenbereich wie z.B. des Partikelwachstums und von Partikelinteraktionen in Dispersionen. Ferner geben die Formen der Verteilungen zuverlässige Informationen über höhermodale Systeme, wie die Vergleichsmessungen mit der AUZ und zusätzliche Messungen an bekannten bimodalen Verteilungen bestätigen. Gleichfalls erweist sich die PFG-NMR Spektroskopie als ein nützliches Werkzeug, um Austauschvorgänge in vitro zu verfolgen und dabei die korrespondierenden Veränderungen der Trägermaterialen zu erfassen.

Das Untersuchungsobjekt der Analysenmethoden sind Nanokapseldispersionen für pharmazeutische Anwendungen. Für die Applikation solcher *Drug-Targeting-*Systeme müssen diese ausreichend charakterisiert sein. Die vielen verschiedenen Eigenschaften der Nanokapseldispersionen bilden bei der Beurteilung des Trägerpotentials ein sehr komplexes System. In dieser Arbeit wurde besonders die Langzeitstabilität der Dispersionen, die Dynamik von niedermolekularen Anteilen wie Tensid, Öl und Ethanol sowie das Austauschverhalten von Molekülen zwischen den Kapseln und der Umgebung analysiert. In Abbildung 7.1 wird das neue Bild über den Aufbau und die Eigenschaften von Nanokapseldispersionen zusammengefasst, das sich aus den Ergebnissen dieser Arbeit ergibt.

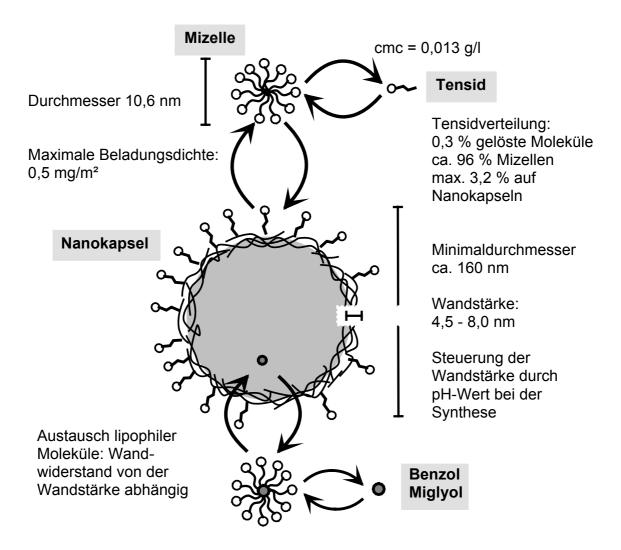


Abb. 7.1: Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

Grundsätzlich wurde zunächst festgestellt, dass die untersuchten Nanokapseldispersionen mindestens 30 Tage gegen Agglomerationserscheinungen stabil sind.

Im Vergleich zeigt sich, dass Ethanol bei Emulsionen den Alterungsprozess der
Ostwaldschen Reifung unterstützt, im Falle der Kapseln aber die Reifung durch die
Polymerwände verhindert wird. Untersuchungen zu den Auswirkungen unterschiedlich starker Scherkräfte des Rührwerks während der Synthese belegen eine starke
Abhängigkeit der Größenverteilung auf unterschiedliche Versuchsaufbauten von
Rührer und Injektionssystem. Im Hinblick auf eine pharmazeutische Anwendung
sollte deshalb bei dem gewählten Syntheseverfahren ein sehr präziser apparativer
Aufbau beachtet werden, um schwankende Größenverteilungen und damit unberechenbare Wirkstoffkonzentrationen in den Nanokapseln zu vermeiden. Diese Problematik kann durch die Verwendung hoher Scherkräfte reduziert werden. Damit
werden auch bei variierenden Ölanteilen nur noch geringe Veränderungen der
Radienverteilungen beobachtet.

Die Formen der Radienverteilungen der DNM-Messungen zeigen, dass die untersuchten Nanokapseln einen minimalen Radius von ca. 80 nm besitzen. Außerdem wird eine Population agglomerierter Partikel in Dispersionen beobachtet.

Eine weitere wichtige Systemeigenschaft ist das Speicherungsvermögen von Wirkstoffen. Hier zeigt sich, dass mit abnehmender Wandstärke der Austausch von Molekülen wie Benzol zwischen den Kapseln und ihrer Umgebung zunimmt. Selbst das eingeschlossene Öl wird außerhalb der Kapseln beobachtet. Die auf den Nanokapseloberflächen adsorbierten und Mizellen bildendenen Tenside unterstützen nachweislich den Austauschvorgang, indem sie die frei werdenden Moleküle solubilisieren. Die Mizellen selber tauschen untereinander die lipophilen Moleküle aus, was belegt, dass die Wirkstoffe kurzzeitig in den ungeschützten Kontakt mit der Umgebung gelangen könnten. Für eine medizinische Applikation mit eingekapselten niedermolekularen Wirkstoffen stellt sich somit die Frage, wie die unerwünschte vorzeitige Freisetzung aufgrund dieses Austausches verhindert werden kann. Hierzu demonstrieren Synthesen mit unterschiedlichen pH-Werten in der vorgelegten organischen Phase, dass mit steigendem pH-Wert die Wandstärken und die Molmassen der Wandpolymere zunehmen und deshalb der Austausch verlangsamt wird. Das Unterbinden der Freisetzung kann weiterhin durch größere Monomeranteile bei der Synthese, möglicherweise auch durch Tenside mit einer stärkeren Affinität zu den Kapseloberflächen erreicht werden.

## Kapitel 9

# **Anhang**

#### 9.1 Publikationen

- M. Wohlgemuth, W. Mächtle, C. Mayer
  - "Improved preparation and physical studies of polybutylcyanoacrylate nanocapsules"
  - J. Microencapsulation, 17, 4, 437-448, 2000
- C. Mayer, D. Hoffmann, M. Wohlgemuth
  - "Structure analysis of nanocapsules by nuclear magnetic resonance" Int. J. Pharm., zur Veröffentlichung eingereicht
- M. Wohlgemuth, C. Finder, C. Mayer
  "Analysis of Particle Size Distributions by Particle Tracking"
  Part. Part. Syst. Charact., zur Veröffentlichung eingereicht
- M. Wohlgemuth, C. Mayer
  - "Pulsed field gradient NMR experiments on dispersed nanocapsules"
  - J. Chem. Phys., zur Veröffentlichung eingereicht

## 9.2 Abkürzungsverzeichnis

#### Kapitel 2: Nanokapsel

BCA n-**B**utyl**c**yano**a**crylat

DLS **D**ynamische **L**icht**s**treuung

dQ WärmeänderungdS EntropieänderungdV Volumenänderung

DVLO Theorie nach D. **D**erjaguin, L. **L**andau, E. **V**erwey, J. T. G.

Overbeek zur Stabilisierung von Kolloiden durch elektrostatische

Doppelschichten

ECA Ethylcyanoacrylat
F freie innere Energie
IBCA Isobutylcyanoacrylat
IHCA Isohexylcyanoacrylat
MCA Methylcyanoacrylat

NMR *Nuclear Magnetic Resonance* (Kernmagnetische Resonanz)

PACA Polyalkylcyanoacrylat

PEO **P**oly**e**thylen**o**xid PPO **P**oly**p**ropylen**o**xid

REM Rasterelektronenmikroskopie

SEC-MALLS Size Exclusion Chromatography coupled with Multiple Angle

Laser Light Scattering (Größenausschlusschromatographie-

Vielwinkelstreulichtphotometer-Kopplung)

TEM Transmissionselektronenmikroskopie

∆σ Oberflächenänderung

γ<sub>O</sub> Oberflächenspannung

#### Kapitel 3: Diffusion

a Aktivität

A Fläche

c Konzentration

D (Selbst-)Diffusionskoeffizienten

D<sub>eff</sub> effektiver (Selbst-)Diffusionskoeffizient

 $D_{Transport}$  Transportdiffusionskoeffizient  $F_{Teilchen}$  Kraft, die auf ein Teilchen wirkt

J Diffusionsstromdichte

m Masse

N<sub>A</sub> Avogadrosche Konstante

P Wahrscheinlichkeit Widerstandsfaktor

R<sub>H</sub> hydrodynamischer Teilchenradius

Readius einer sphärischen Pore

S räumliche Verschiebung

t Zeit

T Temperatur

v Geschwindigkeit

Δ Diffusionszeit

η Viskosität

μ chemisches Potential

 $\mu^{\theta}$  chemisches Potential im Standardzustand

### Kapitel 4: Angewandte NMR-Methoden

B<sub>0</sub> Betrag des externes Magnetfelds

B<sub>1</sub> Betrag des Radiofrequenz-Magnetfelds b<sub>1/2</sub> Halbwertsbreite eines NMR-Signals

B<sub>lokal</sub> lokales Magnetfeld an einem Atomkern

D (Selbst-)Diffusionskoeffizienten

FID Free Induction Decay

g Gradientenstärke

h Plancksches Wirkungsquantum

H Zeeman-Hamilton-Operator

Î<sub>z</sub> Operator für die z-Komponente des Drehimpulses

k Boltzmannkonstante

M<sub>0</sub> maximale Magnetisierung

M<sub>x</sub> Magnetisierungskomponente in x-Richtung

 $P(z_2,z_1,\Delta)$  Propagatorfunktion

PFG **Pulsed Field Gradient** (gepulster Feldgradient)

RF-Feld Radiofrequenz-Magnetfeld

T<sub>1</sub> Zeitkonstante des longitudinalen Relaxationsprozesses

T<sub>2</sub>\* Zeitkonstante der insgesamt beobachtbaren Dämpfung des

NMR-Zeitsignals

T<sub>2</sub><sup>inhom</sup> Zeitkonstante für den Anteil der Dämpfung des NMR-Zeitsignals,

der durch Magnetfeldinhomogenität erzeugt wird

T<sub>2</sub> entrop Zeitkonstante des transversalen Relaxationsprozesses

δ Zeitdauer des Gradientenpulses im PFG-Experiment

 $\delta_{\text{Ch}}$  chemische Verschiebung

Δ Diffusionszeit

△B<sub>0</sub> Betrag der Magnetfeldinhomogenität

∠E Energiedifferenz

φ<sup>i</sup> Phasenwinkel eines Kernspins i

γ Gyromagnetisches Verhältnis

Θ Pulswinkel des Radiofrequenz-Magnetfeldes

 $\tau_p$  Zeitdauer des RF-Feldes

 $\omega_0$  Lamorfrequenz

ω<sub>S</sub> Lamorfrequenz eines allgemein genutzten Standards

Ψ Echointensität

## Kapitel 5: Dynamic Nanosizing Microscopy

a Abstand des Kugelzentrums zur Wand

A<sub>Ob</sub> numerische Objektivapertur A<sub>Bel</sub> numerische Kondensorapertur

B<sub>Akt</sub> Bildmatrix des aktuellen Bildes

B(m,n) Bildmatrix mit m⋅n Graustufenwerten

B<sub>Neu</sub> Bildmatrix des nachfolgenden Bildes

CCD Charged Coupled Device

CCIR-Norm Comité Consultatif International des Radiocommunications

d Abstand zwischen zwei Ebenen

E Einheitsmatrix F<sub>RW</sub> Reibungskraft

F<sub>R</sub> Kraft für den Bewegungswiderstand in einem unbegrenzten

Medium

F<sub>∞</sub> Reibungskraft in einem unendlich erstreckten Medium

l Lichtintensität

K Kontrast

n Brechungsindex v Geschwindigkeit

*∆*λ Gangunterschied zwischen zwei parallelen Wellenzügen

λ Lichtwellenlänge

σ halber Objektivöffnungswinkel

#### Kapitel 6: Ergebnisse und Diskussion

A<sub>Gesamt</sub> Gesamtoberfläche aller Nanokapseln in einer Dispersion

AUZ Analytische Ultrazentrifugation

C<sub>Adsorbiert</sub> Konzentration der adsorbierten Moleküle

c<sub>Gesamt</sub> Konzentration aller Moleküle

CCD Charged Coupled Device

cmc *Critical Micelle Concentration* (Mizellbildungskonzentration)

D<sub>Dispersion</sub> Diffusionskoeffizient für Molekülbewegungen in Dispersionen

D<sub>Frei</sub> Diffusionskoeffizient für freibewegliche Moleküle

D<sub>Kap</sub> Diffusionskoeffizient von eingekapselten oder an Nanokapsel-

oberflächen gebundenen Molekülen

D<sub>Lösung</sub> Diffusionskoeffizient für Molekülbewegungen in Lösungen

D<sub>Miz</sub> Diffusionskoeffizient für mizellargebundene Moleküle

DLS **D**ynamische **L**icht**s**treuung

DNM **D**ynamic **N**anosizing **M**icroscopy

g Gradientenstärke
GM **G**ewichts**m**ittel

n Anteil

N<sub>i</sub> Anzahl an Teilchen mit gleichem Radius

N<sub>Kontakt</sub> Anzahl an Teilchen-Wand-Kontakten

P<sub>a</sub> Anteil der Komponente a P<sub>b</sub> Anteil der Komponente b

PFG-NMR Pulsed Field Gradient Nuclear Magnetic Resonance

Po Polydispersität

ppm parts per million, Einheit der chemischen Verschiebung

P<sub>Öl</sub> Ölmassenanteile in einer Nanokapsel

P<sub>Polymer</sub> Polymermassenanteile in einer Nanokapsel

R Gaskonstante

R<sub>H</sub> hydrodynamischer Teilchenradius

R<sub>i</sub> Radius des Teilchens i

R<sub>Nanokapsel</sub> hydrodynamischer Radius von Nanokapseln

SDS Natriumdodecylsulfat

SEC-MALLS Size Exclusion Chromatography coupled with Multiple Angle

Laser Light Scattering (Größenausschlusschromatographie-

Vielwinkel-streulichtphotometer-Kopplung)

T Temperatur

V<sub>i</sub> Volumen des Teilchens i

Vol.-% Volumenprozent

ZM **Z**ahlen**m**ittel

χ<sub>Adsorbiert</sub> Molenbruch der adsorbierten Moleküle

χ<sub>Miz</sub> Molenbruch des mizellar gebundenen Tensids

δ Zeitdauer des Gradientenpulses im PFG-Experiment

Δ Diffusionszeit

 $\Delta_{\mathsf{Kontakt}}$  Kontaktzeit

△G°<sub>M</sub> freie Standardbildungsenthalpie der Mizellen

γ Gyromagnetisches Verhältnis

 $\mu^{\circ}_{M}$  chemisches Potential der Tensidmoleküle in den Mizellen

μ°<sub>W</sub> chemisches Potential der gelösten Tensidmoleküle

 $\rho$  Dichte

ρöι Dichte von Öl

ρ<sub>Polymer</sub> Dichte des Polymers

ρ<sub>Tensid auf Nanokapseln</sub> Beladungsdichte von Tensid auf Nanokapseloberflächen

 $\rho_{\text{adsorbiert}}^{\text{max}} \qquad \quad \text{oberer Grenzwert der Beladungsdichte}$ 

ρ<sub>total</sub> Dichte von Nanokapseln

τ<sub>Kap</sub> Aufenthaltsdauer der Moleküle in Nanokapseln

τ<sub>Frei</sub> Aufenthaltsdauer der Moleküle im umgebenden Medium der

Nanokapseln

Ψ Echointensität

Ψ<sub>Kap</sub> Echointensität für Moleküle innerhalb von Nanokapseln

Ψ<sub>Frei</sub> Echointensität für Moleküle im umgebenden Medium von

Nanokapseln

#### Kapitel 7: Experimenteller Teil

AUZ Analytische Ultrazentrifugation

AQ Akquisitionszeit c Konzentration

cmc Critical Micelle Concentration (Mizellbildungskonzentration)

CPMG Pulsgramm zur Messung von T<sub>2</sub> entrop-Relaxationszeiten von H. Y.

Carr, E. M. Purcell, S. Meiboom, D. Gill

DLS **D**ynamische **L**icht**s**treuung

DNM **D**ynamic **N**anosizing **M**icroscopy

g Gradientenstärke

m Masse

PD RF-Pulslänge

PFG-NMR Pulsed Field Gradient Nuclear Magnetic Resonance

PL RF-Power Level

Ra Rampenlänge des Gradientenpulses

RD Recycle Delay
RF Radiofrequenz
SD Spoilerlänge
SL Spoilerstärke

ST	Stabilisationszeit
T <sub>1</sub>	Zeitkonstante des longitudinalen Relaxationsprozesses
T <sub>2</sub> entrop	Zeitkonstante des transversalen Relaxationsprozesses
δ	Zeitdauer des Gradientenpulses im PFG-Experiment
Δ	Diffusionszeit
τ	Echozeit

## 9.3 Englische Kurzfassung (Abstract)

The central topic of this work was the comparative assessment of two analytical techniques: Pulsed Field Gradient Nuclear Magnetic Resonance (PFG-NMR) spectroscopy and the Dynamic Nanosizing Microscopy (DNM). They are focused on the same physical parameter: the self diffusion, the central phenomenon in this study. Although both techniques are quite different, the determined diffusion constants are almost equal. In both cases the direct observation of nanocapsule movements results in the determination of the particle size. Furthermore, PFG-NMR allows for the observation of diffusion related exchange processes, while DNM is suitable for time resolved measurement of particle growth and for the determination of multimodal size distributions.

With the methods introduced above nanocapsule dispersions are investigated with regard to their use as drug targeting systems in pharmaceutical applications. A nanocapsule consists of an oil droplet surrounded by a polymeric wall. The wall is made of poly-n-butylcyanoacrylate and surfactants are bound to the particle surface to stabilise the dispersion and avoid any agglomeration. Inside the polymeric shell lipophilic drugs could be dissolved and encapsulated.

Figure 9.1 summarises the results of this study. Initially, the dynamic behaviour of surfactant molecules in the colloidal system was measured. Three possible states of mobility corresponding to three kinds of molecules were expected: dissolved in free environment, micellar bound and adsorbed to capsule surfaces. The critical micelle concentration indicates that approximately 96 % of the total amount of surfactants is bound in micelles with an average diameter of 10.6 nm. The ratio of adsorbed molecules is very low and not observable in the PFG-NMR experiment. Concerning

to the sensitivity limit of the NMR method, it was estimated that the maximum amount of surfactants adsorbed on nanocapsule surfaces is 0.5 mg/m<sup>2</sup>.

An important issue of this work was the encapsulation of special compounds (benzene) as model compounds for pharmaceutical drugs and the observation of release processes by using NMR imaging methods like PFG-NMR spectroscopy. The measurements display a molecular exchange mechanism for benzene between the nanocapsules and the environment. It could be shown that this process is controlled by wall thickness and the molecular weight of the polymers inside the wall. For

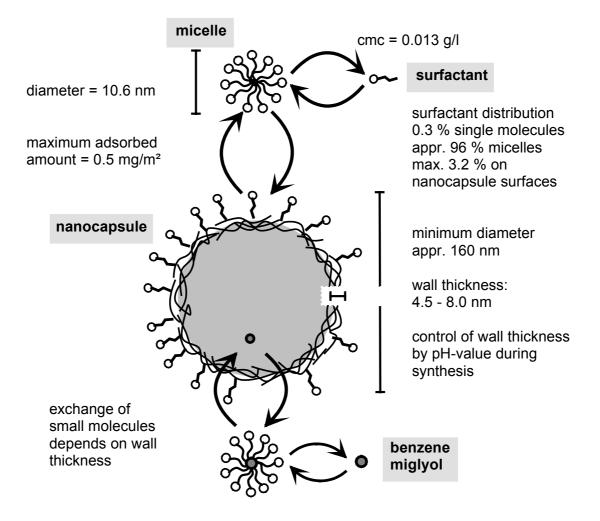


Figure 9.1: Summary of the results

achieving different exchange rates, the pH-value of the organic phase during the synthesis was lowered by adding a small amount of hydrochloric acid. With decreasing pH-value a decrease of wall thickness (8 to 4.5 nm) and molecular weight (84000 to 8000-10000 g/mol) was found. This phenomenon is well-known and caused by the rapid abort of the living chain polymerisation by  $H_3O^+$  ions. In addition,

we could measure the influence of surfactant molecules on the exchange process. Free molecules like benzene or the core material oil are involved in an intermicellar exchange procedure. This was deduced by the observed diffusion coefficients of the released molecules that are equal to the average between the coefficients of micelles and free diffusing molecules.

Of particular interest for pharmaceutical applications is the control of the size of nanocapsules, due to the fact that this parameter is, among other things, responsible for compatibility and efficiency in medical use. For fast and accurate size distributions, a new method was developed: a combination of dark field microscopy with a digital video system. It was successfully tested with uni- and bimodal polystyrene nanoparticle distributions with radii ranging from 50 to 200 nm. With this so called DNM method we found a size distribution for nanocapsules from 80 up to 300 nm by applying strong shear stresses during synthesis. These results are in good agreement with size distributions measured with the methods of Analytical Ultracentrifugation and Dynamic Light Scattering. Application of different shear stresses during the synthesis lead to the conclusion that the lower limit of the radius of nanocapsules is 80 nm. It seems that smaller particles are not accessible by our synthesis.