

EMULSIONSSTABILISIERUNG DURCH MARINE POLYSACCHARIDE

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

KIRSTEN PETERSEN

Kiel 2013

Erster Gutachter: Prof. Dr. Hartwig Steckel
Zweite Gutachterin: Prof. Dr. Karin Schwarz
Tag der mündlichen Prüfung: 12.11.2013

The most exciting phrase to hear in science,
the one that heralds new discoveries
isn't 'Eureka' but rather 'Hmmm... that's funny'

Isaac Asimov

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

Posterbeiträge:

DPhG Jahrestagung 2010, Braunschweig, T055:

Petersen, K., Steckel, H.

Assessment of Emulsifying Properties of Algal Extracts

6th Polish-German Symposium on Pharmaceutical Sciences 2011, Düsseldorf, P118:

Petersen, K. and Steckel, H.

Emulsifiers from the Alga *Ascophyllum nodosum*

8th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology 2012, Istanbul, Poster 134:

K. Petersen and H. Steckel

Emulsifiers from the Alga *Ascophyllum nodosum*: Influence of Extract-Content on Emulsion Stability

Blue Biotechnology Cooperation Event 2012, Kiel, Poster 6:

K. Petersen & H. Steckel

Emulsifiers from *Ascophyllum nodosum*

Zeitschriftenbeitrag:

Journal of Dispersion Science and Technology 2013, Taylor & Francis

online veröffentlicht unter DOI: 10.1080/01932691.2013.813394

A DOE approach to investigate the influence of process-parameters and composition on the stability of emulsions stabilized by marine polysaccharides prepared by high-pressure homogenisation

Das Fehlen einer besonderen Kennzeichnung oder eines entsprechenden Hinweises auf ein Warenzeichen, ein Gebrauchsmuster oder einen Patentschutz lässt nicht den Schluss zu, dass über die in dieser Arbeit angegebenen Dinge frei verfügt werden kann.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	1
1.1	Einleitung	1
1.2	Zielsetzung	2
2	THEORETISCHER TEIL.....	3
2.1	Emulsionen.....	3
2.2	Stabilisierung von Emulsionen mit Polymeremulgatoren	9
2.3	Einsatzgebiete mariner Substanzen	14
2.3.1	Fucoidan	14
2.3.2	Alginat.....	17
3	MATERIAL	19
4	METHODEN	21
4.1	Extraktion der Polysaccharide	21
4.2	Gefriertrocknung	22
4.3	Charakterisierung der Extrakte.....	23
4.3.1	Gravimetrische Bestimmung des Polysaccharidgehaltes	23
4.3.2	Brechungsindex.....	23
4.3.3	Dichte	23
4.3.4	Viskosität und Fließverhalten.....	24
4.3.5	Oberflächenspannung.....	24
4.4	Herstellung der Emulsionen	25
4.4.1	Vorhomogenisierung.....	25
4.4.2	Hochdruckhomogenisierung.....	25
4.5	Charakterisierung der Emulsionen	26
4.5.1	Lichtmikroskopie	26
4.5.2	Lichtstreuung.....	26

4.6	Statistische Versuchsplanung	30
5	PRAKTISCHER TEIL	33
5.1	Screening verschiedener Algenextrakte	33
5.2	Voruntersuchungen zur Hochdruckhomogenisierung	37
5.2.1	Einfluss der Zyklenanzahl	37
5.2.2	Einfluss des Homogenisierdruckes	39
5.3	Voruntersuchungen zur Zusammensetzung der Emulsionen	40
5.3.1	Einfluss des Ölgehaltes	40
5.3.2	Einfluss des Extraktgehaltes	41
5.4	Einfluss von Ölgehalt und Homogenisierdruck	44
5.5	Optimierung des Extraktionsprozesses	45
5.5.1	Fraktionierung des groben Algenmaterials	46
5.5.2	Verwendung eines Rotor-Stator-Homogenisators	49
5.5.3	Verwendung von fein gemahlenem Algenmaterial	50
5.5.4	Ermittlung des Verhältnisses zwischen Algenmaterial und Extraktionsmittel	54
5.5.5	Extraktionsdauer	57
5.6	Optimierung von Prozess und Zusammensetzung	58
5.6.1	Vorhomogenisierung	58
5.6.2	Homogenisierdruck und Zusammensetzung der Emulsionen	67
5.7	Stabilisierung der Emulsionen durch Gelbildung	89
5.7.1	Zusatz von Salzsäure	89
5.7.2	Zusatz von Calciumchlorid	91
5.7.3	Zusatz von Carbomer	92
5.8	Verwendung unterschiedlicher Algenchargen	95
5.9	Variation der lipophilen Phase	98
5.10	Fazit	100

6	ZUSAMMENFASSUNG	102
7	ABSTRACT (ENGLISH VERSION).....	103
8	ANHANG	V
8.1	ANOVA aus Abschnitt 5.6	V
8.2	Abbildungsverzeichnis	IX
8.3	Literaturverzeichnis	XIV

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ANOVA	Analysis of Variance; Varianzanalyse
BSA	bovine serum-albumin; Rinderserumalbumin
CRM	Coastal Research Management, Kiel
DAB	Deutsches Arzneibuch
DOE	Design of Experiments, statistische Versuchsplanung
HHM-HEC	Hydrophobically-hydrophilically modified hydroxyethylcellulose
HLB	hydrophilic lipophilic balance
HPMC	Hydroxypropylmethylcellulose
m/m	Masse pro Masse
mN / m	Einheit der Oberflächenspannung
(m)Pa · s	Einheit der dynamischen Viskosität
PEG, PEO	Polyethylenglycol, Polyethylenoxid
PPO	Polypropylenoxid
rpm	rounds per minute; Umdrehungen pro Minute
TSI	Turbiscan Stabilitätsindex

1 Einleitung und Zielsetzung

1.1 Einleitung

Emulsionen sind mehrphasige Systeme, auf die in der dermalen Applikation von Arzneistoffen und auch im kosmetischen Bereich nicht verzichtet werden kann. Durch Variationen in der quantitativen Zusammensetzung von lipophiler und hydrophiler Phase können sie an die Bedürfnisse trockener oder fettiger Haut angepasst werden und sie ermöglichen die Verarbeitung von hydrophilen und lipophilen Arzneistoffen. Um die hydrophile und die lipophile Flüssigkeit, die eine Emulsion bilden, in einer stabilen Zubereitung zu verbinden, ist der Einsatz von Substanzen nötig, die in sich beide Eigenschaften vereinen. Diese Emulgatoren haben dadurch oberflächenaktive Eigenschaften, die auch zur Reizung der Haut beitragen können [1]. Es ist daher wünschenswert, sie durch Substanzen zu ersetzen, die nicht nur keine schädigenden Eigenschaften haben, sondern - im Gegenteil - sogar die Gesundheit der Haut fördern.

In Kosmetika werden schon seit einiger Zeit Algenextrakte eingesetzt, da ihnen beispielsweise eine Straffung der Haut zugesprochen wird. Eine Substanz, die vermutlich zu dieser Wirkung beiträgt ist das sulfatierte Polysaccharid Fucoidan, dem in vielen Untersuchungen der letzten Jahre wünschenswerte Eigenschaften zur Anwendung auf der Haut nachgewiesen wurden. Hierzu gehören beispielsweise antioxidative Wirksamkeit, Verdickung der Haut und Steigerung der Hautelastizität [2], [3]. Die Struktur von Fucoidan und auch von anderen marinen Polysacchariden lässt erwarten, dass diese Substanzen zur Stabilisierung von Emulsionen geeignet sein können.

Während viele herkömmliche Emulgatoren Nebenprodukte aus der Erdölindustrie sind bzw. diese benötigen, kann mit dem Einsatz von Algen-Polysacchariden ein nachwachsender Rohstoff als Quelle von Emulgatoren verwendet werden.

1.2 Zielsetzung

In dieser Arbeit soll untersucht werden, ob es möglich ist, mit einem wässrigen Extrakt aus Algenmaterial Emulsionen zu stabilisieren. Der Extrakt enthält aufgrund des einfachen Extraktionsverfahrens eine Vielzahl an zum Teil sulfatierten Polysacchariden und andere Substanzen. Aufgrund der Struktur vieler mariner Polysaccharide wird vermutet, dass sie als Polymeremulgatoren eingesetzt werden können, da ihr häufig hydrophiles Rückgrat auch weitere eher lipophile Gruppen trägt und die Moleküle so hydrophile und lipophile Eigenschaften in sich vereinen. Ziel dieser Arbeit ist es, diese Vermutung zu bestätigen.

Zunächst wurden die Extrakte aus unterschiedlichen Algen untersucht, um festzustellen, welcher der Extrakte die besten Eigenschaften bezüglich der Stabilisierung von Emulsionen zeigt. Die Extrakte für dieses Screening wurden von der Kieler Firma Coastal Research Management (CRM) zur Verfügung gestellt. Als Algenmaterial wurden dabei Algen mit einem möglichst hohen Polysaccharidgehalt gewählt. Nach der Entscheidung aus dem Screening waren unterschiedliche Untersuchungen notwendig. Zum einen sollte das Extraktionsverfahren verbessert werden, andererseits sollten auch das Herstellungsverfahren und die Zusammensetzung der Emulsionen im Hinblick auf die Herstellung möglichst stabiler Emulsionen optimiert werden.

2 Theoretischer Teil

2.1 Emulsionen

Das Europäische Arzneibuch definiert eine Emulsion als „*ein disperses System aus mindestens zwei nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten. Eine der Flüssigkeiten ist in Tröpfchenform in der anderen Flüssigkeit dispergiert*“ [4]. Solch ein disperses System ist kinetisch instabil und muss daher durch verschiedene Mechanismen stabilisiert werden. In Einzelfällen ist es ausreichend, die Viskosität der kontinuierlichen Phase so weit zu erhöhen, dass ein Koaleszieren der Tröpfchen nicht möglich ist. Diese Variante findet sich beispielsweise bei der Kühsalbe DAB, deren äußere Phase aus Erdnussöl mit dem Zusatz von gelbem Wachs und Cetylpalmitat besteht [5]. In den weitaus meisten Fällen ist es jedoch nötig, die Stabilität von Emulsionen durch den Zusatz bestimmter emulsionsstabilisierender Substanzen zu erhöhen.

Diese Substanzen lassen sich in drei Gruppen unterteilen [6]:

- oberflächenaktive Substanzen,
- feinverteilte Feststoffe und
- natürliche makromolekulare Polymere.

Die Gruppe der oberflächenaktiven Substanzen (sogenannte „kleine Moleküle“) ist dabei die am häufigsten vertretene, bringt aber oft den Nachteil hämolytischer Aktivität mit sich und hat zusätzlich häufig irritatives Potential bei dermalen Anwendung [1]. Es handelt sich um Substanzen, die in ihrem Molekulaufbau einen hydrophilen und einen lipophilen Teil aufweisen, die räumlich voneinander getrennt sind. So bietet sich die Möglichkeit der Anreicherung in der Grenzfläche zwischen Wasser und Öl.

Werden feinverteilte Feststoffe zur Stabilisierung verwendet, spricht man auch von „Pickering-Emulsionen“, die 1907 von Spencer Umfreville Pickering erstmals

beschrieben wurden [7]. Verwendung finden dabei Partikel, deren Größe im Nanometer-Bereich liegt und die sowohl von der wässrigen als auch von der öligen Phase benetzt werden können, wie beispielsweise Calciumcarbonat, oder aber auch Bakterien [8]. Die dritte Möglichkeit der Stabilisierung durch Polymere ist schließlich Gegenstand dieser Arbeit.

Zunächst soll aber beleuchtet werden, welche Instabilitätserscheinungen in Emulsionen auftreten können – und auch, wie diesen entgegengewirkt werden kann. Hierbei kann zwischen reversiblen und irreversiblen Instabilitätserscheinungen unterschieden werden. Da die in dieser Arbeit betrachteten Emulsionen vom Typ Öl-in-Wasser (O/W) vorliegen, werden die folgenden Beispiele auf diese Phasenlage bezogen.

Als meistens reversible Instabilitätserscheinungen sind vor allem Aufrahmen und Flockung von Emulsionen zu nennen. Aufrahmen bedeutet, dass die dispersen Öltröpfchen aufgrund ihrer im Vergleich zur wässrigen Phase meist geringeren Dichte nach oben schwimmen. Bei der Flockung von Emulsionen handelt es sich um die Anlagerung einzelner Tröpfchen aneinander, wobei die Tropfen zwar durch einen dünnen Film voneinander getrennt bleiben, sich sonst aber wie ein größerer Tropfen verhalten. Meist sind sowohl Aufrahmen als auch Flockung durch leichtes Schütteln rückgängig zu machen. Zu den irreversiblen Instabilitätserscheinungen zählen Koaleszenz und Ostwald-Reifung, die letztlich bis zu einem Brechen der Emulsion, also einer vollständigen Auftrennung in die beiden Phasen, führen können. Hierbei bedeutet Koaleszenz, dass zwei (oder mehrere) Tröpfchen sich einander annähern und dabei zu einem größeren Tropfen zusammenfließen. Ostwald-Reifung beschreibt ein Phänomen, das vor allem in polydispersen Emulsionen auftritt: größere Tröpfchen wachsen immer weiter auf Kosten der kleineren Tröpfchen, die wiederum dadurch verschwinden. Die hier beschriebenen Instabilitätserscheinungen sind schematisch in Abbildung 2.1.1 dargestellt.

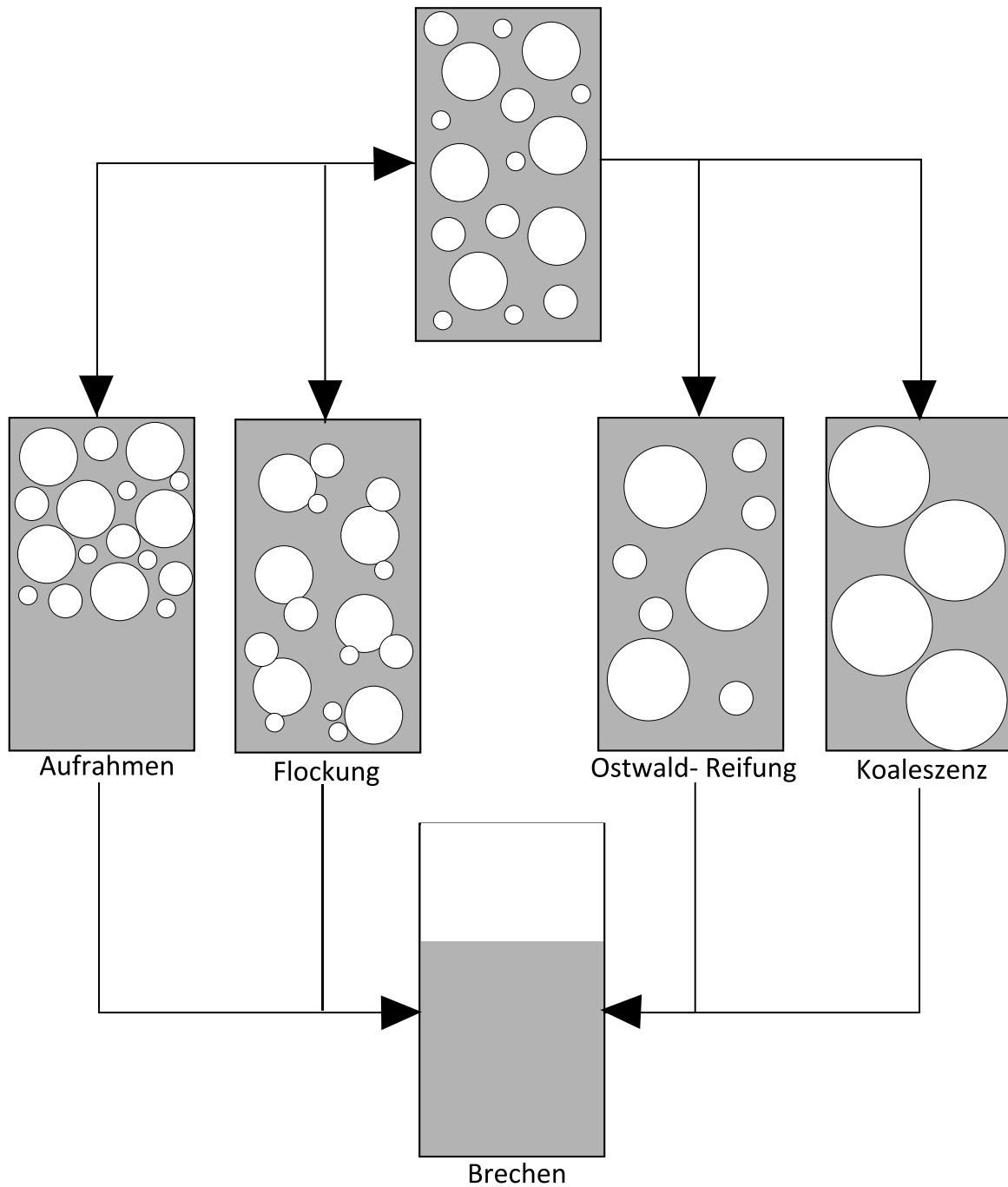


Abbildung 2.1.1: Instabilitätserscheinungen in Emulsionen

Aufräumungserscheinungen sind hierbei hauptsächlich eine Frage der kinetischen Stabilisierung, da jeder Unterschied in der Dichte der beiden Phasen zu Bestrebungen der dispersen Phase führt, aufzurahmen (oder zu sedimentieren). Eine Unterdrückung wäre theoretisch durch eine absolute Anpassung der Dichte beider Phasen möglich, was aber zu strengen Limitierungen der Zusammensetzung führen würde. Zudem ist die Dichte temperaturabhängig, daher wäre bei

Verwendung dieses Ansatzes eine durchgehende strenge Temperierung der Emulsion nötig. Eine weitere Möglichkeit ist die Verwendung einer äußeren Phase, die eine Fließgrenze aufweist, sodass die treibende Kraft für die Teilchenbewegung diese nicht überwinden kann. Die Geschwindigkeit v dieses Vorganges ist unter anderem abhängig von der Tröpfchengröße (dem Tröpfchenradius) der dispersen Ölphase r , dem bereits erwähnten Dichteunterschied $\rho_{\text{kont.}} - \rho_{\text{disp.}}$ und der dynamischen Viskosität der äußeren wässrigen Phase η . Einen Zusammenhang zwischen diesen Größen stellt das Stokes'sche Sedimentationsgesetz her, das allerdings nur für verdünnte Dispersionen gilt. Die Beziehung zwischen der Aufrahmungsgeschwindigkeit in Emulsionen und den sie beeinflussenden Faktoren wird daher streng genommen nicht durch dieses Gesetz beschrieben, da es sich nicht um verdünnte Systeme handelt. Diesem Umstand wird durch die Einführung eines sogenannten Hinderungsfaktors $f(\phi) < 1$ Rechnung getragen [9], sodass die Aufrahmungsgeschwindigkeit durch die folgende Gleichung (1) beschrieben werden kann:

$$v = \frac{2 \cdot r^2 \cdot (\rho_{\text{disp.}} - \rho_{\text{kont.}}) \cdot g}{9 \cdot \eta} \cdot f(\phi) \quad (1)$$

Eine gute Möglichkeit zur Stabilisierung von Emulsionen gegenüber Aufrahmen ist daher die Erzeugung möglichst kleiner Tröpfchen, die von einer äußeren Phase mit hoher Viskosität umgeben werden. Da Aufrahmen aber durch Schütteln von Emulsionen rückgängig gemacht werden kann, ist dieses Phänomen nicht als kritisch hinsichtlich der Stabilität zu bewerten.

Flockung von Emulsionen ist eine Folge der van-der-Waals-Kräfte, die in allen dispersen Systemen auftreten. Sie sind in ihrer Stärke umgekehrt proportional zum Abstand zwischen zwei Tröpfchen. Je dichter die Tröpfchen also gepackt sind, desto stärker wirken die van-der-Waals-Kräfte. Den van-der-Waals-Kräften entgegengesetzt wirken elektrostatische Abstoßung und sterische Hinderung.

Elektrostatische Abstoßung kann beispielsweise durch den Einsatz geladener Emulgatoren bewirkt werden, wodurch alle Tröpfchenoberflächen gleichsinnige Ladungen tragen. Das Zusammenspiel dieser Kräfte wird mit der DLVO-Theorie (benannt nach Derjaguin, Landau, Verwey und Overbeek) beschrieben und ist in Abbildung 2.1.2 schematisch dargestellt. Die van-der-Waals-Kräfte (gestrichelt dargestellt) wirken dabei über etwas geringere Entfernungen als die elektrostatische Abstoßung (gepunktet dargestellt).

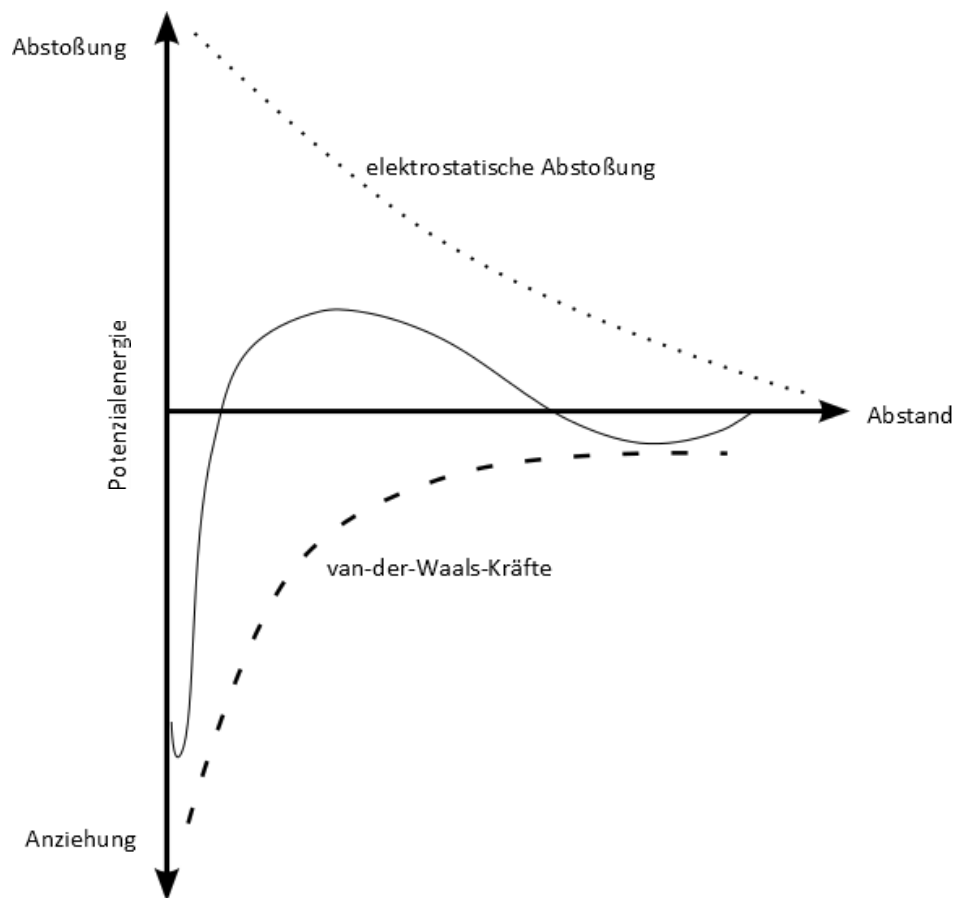


Abbildung 2.1.2: Abhängigkeit der Potenzialenergie vom Teilchenabstand entsprechend der DLVO-Theorie, modifiziert nach [10]

Die Kurve der resultierenden Kraft (in der Abbildung durchgehend gezeichnet) weist daher ein primäres Minimum in der Potenzialenergie bei sehr geringer Entfernung der Tröpfchen und ein sekundäres Minimum bei etwas größerer Entfernung auf [10].

Zu einer Flockung der Tröpfchen kommt es also genau dann, wenn der Abstand zwischen den Tröpfchen mit der Lage eines energetischen Minimums übereinstimmt. Dies hat zur Folge, dass durch Veränderung der Ladungen (also der elektrostatischen Abstoßung) auch pH-Wert und Elektrolytkonzentration einen Einfluss auf die Emulsionsstabilität ausüben können.

Zusätzlich zu den mit der DLVO-Theorie beschriebenen Effekten können Emulgatoren mit großen Kopfgruppen (wie beispielsweise Polyethylenglykol-Ketten) durch sterische Hinderung eine Annäherung der Tröpfchen verhindern [11].

Zusammenfassend lassen sich die folgenden generellen Regeln zur Reduktion von Flockung in Emulsionen aufstellen [12]: Eine Stabilisierung mit Hilfe von Ladungen kann durch hohes Oberflächen- bzw. Zetapotential, niedrige Elektrolytkonzentration und niedrigvalente Ionen erreicht werden. Zur sterischen Stabilisierung müssen vier Kriterien erfüllt werden: Eine komplette Bedeckung der Tröpfchen mit den stabilisierenden Ketten, feste Verankerung dieser Ketten in den Tröpfchen (durch mindestens teilweise Löslichkeit der Ketten im Öl), dicke (5–10 nm) adsorbierte Schichten und eine möglichst temperaturunabhängig gute Löslichkeit der Polymerketten.

Koaleszenz von Emulsionströpfchen kann immer dann auftreten, wenn sich mehrere Tröpfchen (beispielsweise durch Aufrahmen oder Flockung) stark aneinander annähern. Ausdünnung und Riss des Emulgatorfilmes können die Folge sein, wodurch mehrere Tröpfchen zu einem zusammenfließen. Daher ist eine Möglichkeit zur Vermeidung von Koaleszenz, die Annäherung der Tröpfchen zu vermeiden, wie es auch schon im Zusammenhang mit der Vermeidung von Flockung beschrieben wurde.

Als Ostwald-Reifung (benannt nach Wilhelm Ostwald, 1853-1932) wird schließlich die Diffusion einzelner Moleküle der inneren Phase durch die äußere Phase bezeichnet, die das Wachstum der großen und das Verschwinden der kleineren

Tröpfchen zur Folge hat. Eine Voraussetzung dafür ist eine gewisse Mischbarkeit der beiden Phasen, da sonst keine Diffusion aus den kleinen in die großen Tröpfchen erfolgen kann. Die Triebkraft hierfür ist das unterschiedliche chemische Potential der Tröpfchen. Durch die Oberflächenspannung sind die kleineren Tröpfchen mit stärker gekrümmten Oberflächen instabiler als größere Tröpfchen und haben daher das Bestreben, diesen instabilen Zustand zu verlassen [13].

Schließlich wird sich also eine Emulsion vollständig in ihre beiden Phasen auftrennen („Brechen“), wenn sich einzelne Tröpfchen aneinander annähern und zu größeren Tröpfchen koaleszieren. Dieser Vorgang wird durch das Vorhandensein polydisperser Tröpfchen beschleunigt.

2.2 Stabilisierung von Emulsionen mit Polymeremulgatoren

Polymeremulgatoren können mehrere Effekte bewirken, die die Stabilisierung von Emulsionen begünstigen können:

- Erhöhung der Viskosität der äußeren Phase,
- Ausbildung eines vergleichsweise starken Filmes um die Öltröpfchen,
- sterische Stabilisierung und
- bei Verwendung geladener Polymere zusätzlich elektrostatische Stabilisierung.

Die Kriterien, die in Bezug auf die sterische Stabilisierung von Emulsionen bereits in Kapitel 2.1 genannt wurden, gelten im besonderen Maße für den Einsatz von Polymeremulgatoren.

Damit Polymere überhaupt in der Lage sind, Emulsionen zu stabilisieren, müssen sie sich an der Grenzfläche zwischen Wasser und Öl anreichern können. Die strukturelle Vorstellung kann den Mechanismen der Adsorption von Polymeren an Feststoffe entlehnt werden. Diese beschreiben Sato et al. unter anderem mit den in Abbildung 2.2.1 dargestellten Möglichkeiten.

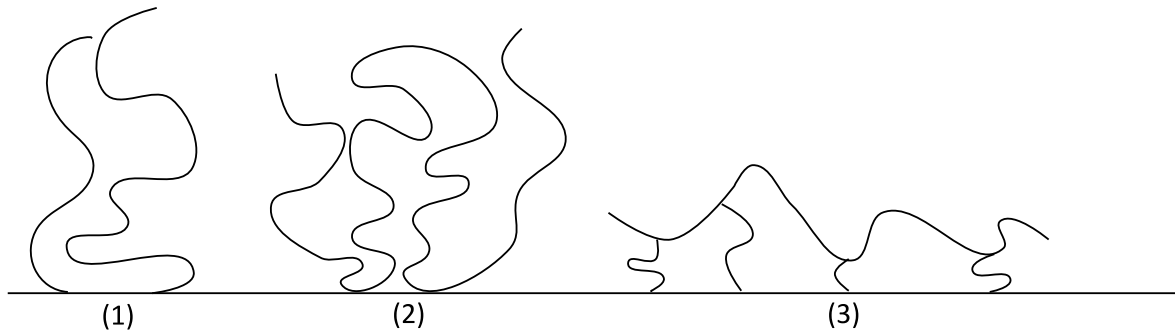


Abbildung 2.2.1: Möglichkeiten der Adsorption von Polymeren an Feststoffen modifiziert nach {Sato 1980 #194}; Erläuterungen siehe Text

Dabei beschreibt (1) die Adsorption der Polymere an jeweils nur einem Ende der Kette, während in (2) durch Bildung von Schlaufen in einem linearen Molekül die Adsorption an mehreren Stellen erfolgt. Bei einem verzweigten Molekül, beispielhaft in (3) dargestellt, kann die Adsorption ebenfalls an mehreren Stellen des Moleküls erfolgen, ohne dass dafür große Schlaufen gebildet werden [14].

Eine Gruppe von Polymeremulgatoren, die weite Verwendung findet, sind Blockcopolymer aus Polyethylenoxid (PEO) und Polypropylenoxid (PPO). Sie werden auch als Poloxamere bezeichnet. Sie sind mit einer Vielzahl verschiedener Kettenlängen erhältlich und die Struktur kann schematisch wie in Abbildung 2.2.2 folgt dargestellt werden:

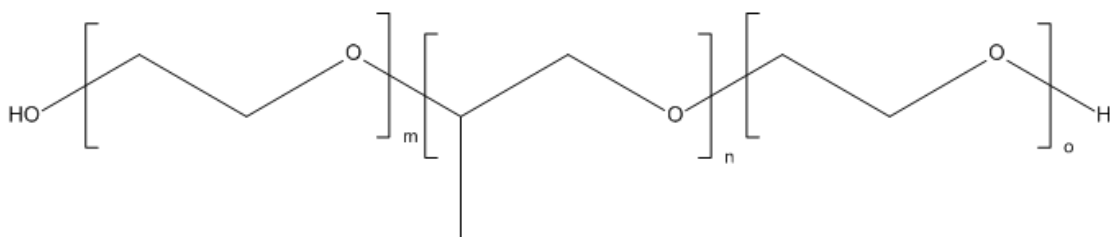


Abbildung 2.2.2: Struktur eines PEO-PPO-PEO-Blockcopolymeren

Die PEO-Ketten (hier an den Enden des Moleküls dargestellt) sind dabei hydrophil, während die mittlere PPO-Kette hydrophobe Eigenschaften aufweist. Dadurch kann sich das Copolymer in einer O/W-Emulsion derart anordnen, dass sich der PPO-Anteil an der Grenzfläche befindet (da er weder wasser- noch öllöslich ist), während die PEO-Ketten nach außen in die hydrophile Phase ragen [15]. Dadurch

wird einerseits die Grenzfläche stabilisiert und außerdem eine Annäherung mehrerer Tröpfchen sterisch verhindert. Somit ist weder Koaleszenz noch Flockung in solcherart stabilisierten Emulsionen zu erwarten.

Neben den Blockcopolymeren gibt es die sogenannten Pfropf-Copolymere. Hierbei sind mehrere kurze lipophile Seitenketten an einer polymeren hydrophilen Kette vorhanden, die ebenfalls bewirken, dass sich das Makromolekül an Phasengrenzen anreichern kann. Ein kommerziell erhältliches Beispiel für ein solches Pfropf-Copolymer ist Inulin-Dodecylcarbammat (siehe Abbildung 2.2.3), ein hydrophobisiertes Inulin-Derivat.

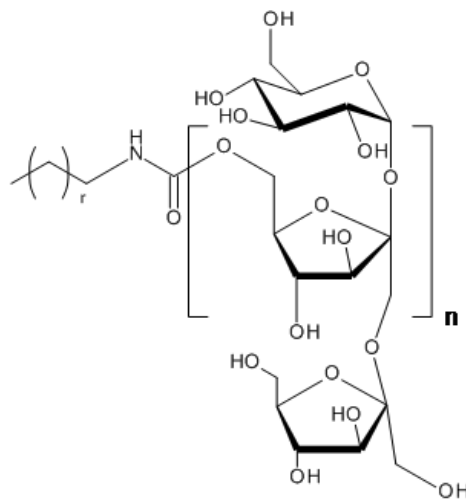


Abbildung 2.2.3: Struktur von Inulincarbammat nach {Stevens 2001 #192}

Inulin besteht aus β -(2 \rightarrow 1)-verknüpften Fructoseeinheiten, die als hydrophiles Rückgrat des Polymers dienen. Als hydrophobe Gruppen können dann beispielsweise Alkylreste an primären und sekundären Hydroxylgruppen eingeführt werden [15]. Diese Alkylketten können auf Öltröpfchen stark adsorbiert werden, die Grenzflächenspannung senken und so die Öltröpfchen stabilisieren.

Octyl-Inulincarbammat verhält sich in Bezug auf die Oberflächenspannung dabei vergleichbar zu vielen klassischen Tensiden. Es senkt die Oberflächenspannung auf etwa 35 mN/m und hat eine kritische Mizellbildungskonzentration von etwa 0,01% [16].

Auch wasserlösliche Cellulosederivate können emulsionsstabilisierende Eigenschaften zeigen, wie es beispielsweise auf Hydroxypropylmethylcellulose (Hypromellose, HPMC) zutrifft. Hier sind die hydrophileren Hydroxypropyl- und die lipophileren Methylreste statistisch zufällig entlang der Celluloseketten verteilt und sorgen dafür, dass sich eher hydrophile und eher lipophile Molekülteile abwechseln, was die Anlagerung an Grenzflächen zwischen Wasser und Öl begünstigt. Ein möglicher Molekülausschnitt ist in Abbildung 2.2.4 dargestellt.

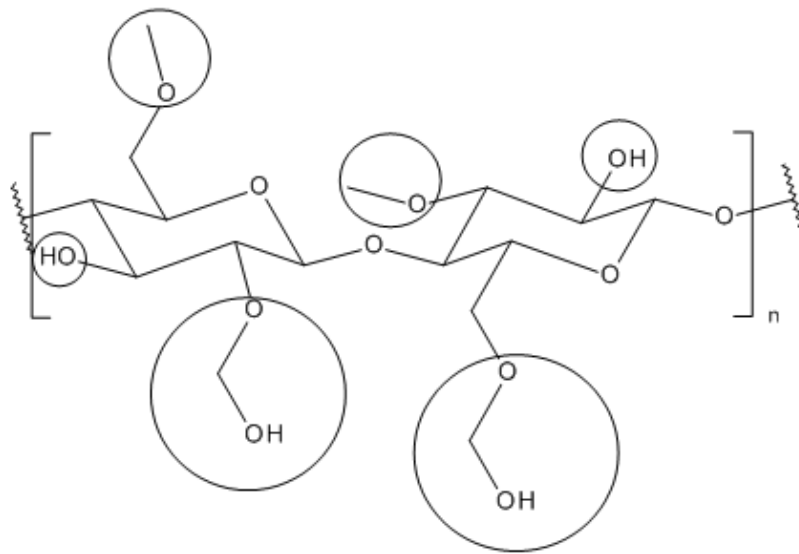


Abbildung 2.2.4: mögliche Teilstruktur von Hypromellose, Erläuterungen siehe Text

Die Kreise in der Abbildung zeigen die Stellen, an denen die genannten Reste oder auch underivatisierte Hydroxylgruppen vorliegen können.

1997 konnten beispielsweise Hayakawa et al. zeigen, dass eine Emulsion nur aus Silikonöl, Wasser und HPMC hergestellt werden kann und auch über einen Zeitraum von mindestens 72 Stunden stabil bleibt [17].

Akiyama et al. modifizierten Hydroxyethylcellulose mit einer lipophilen Alkylkette (C_{18}) und hydrophilen Sulfonsäureresten und setzten diese Substanz zur Emulsionsstabilisierung ein. Sie wird daher als HHM-HEC (hydrophobically-hydrophilically-modified hydroxyethylcellulose) bezeichnet. Akiyama et al. konnten zeigen, dass durch den Einsatz dieses Polymeres stabile Emulsionen erzeugt werden konnten [18]. Da diese Emulsionen jedoch vergleichsweise große

Tröpfchen enthielten, wurden zusätzlich klassische Emulgatoren mit einem niedrigen HLB verwendet [19], wodurch die Tröpfchengröße deutlich reduziert werden konnte.

An Alginat wurde von Yang et al. eine weitere hydrophobe Modifizierung durchgeführt [20]. Da Alginat viele freie Hydroxyl- und Carboxylfunktionen aufweist (vergleiche Abschnitt 2.3.2), ist eine Modifizierung vergleichsweise leicht möglich. Als hydrophobe Reste führten Yang et al. Dodecanolreste in das Molekül ein. Zur Herstellung der Emulsionen verwendeten sie 10% Sonnenblumenöl und eine Konzentration von 0,3% bis 1,2% Dodecanolalginat in der wässrigen Phase. Die Herstellung erfolgte mittels eines Feinsthomogenisators und anschließender Ultraschallhomogenisierung. Sie konnten zeigen, dass diese Modifizierung von Alginat zu einer Substanz führt, die (bevorzugt in einer Konzentration von über 0,8% in der Wasserphase bei den untersuchten Bedingungen) zur Emulsionsstabilisierung eingesetzt werden kann.

Auch der Einfluss des erwähnten Fucoidan auf die Stabilität von Emulsionen wurde 2008 bereits untersucht [21]. Dabei diente das Fucoidan allerdings nicht allein als Emulgator, sondern wurde Emulsionen zugesetzt, die durch Rinderserumalbumin (BSA) stabilisiert wurden. Diese Emulsionen wurden mit einem Rotor-Stator-System vorhomogenisiert und anschließend erfolgte die eigentliche Emulgierung durch Ultraschall. Durch einen 1%igen Zusatz von Fucoidan zu Emulsionen mit 0,5% BSA, die als lipophile Phase 20% Maiskeimöl enthielten, konnte der Betrag des Zetapotentials deutlich erhöht werden und die Aufrahmggeschwindigkeit wurde in etwa halbiert. Weitere Untersuchungen, die 2010 veröffentlicht wurden, zeigten, dass Fucoidan zwar die Oberflächenspannung von Wasser nicht senkt, aber dennoch die Emulsionsstabilität der BSA-stabilisierten Emulsionen auch bei unterschiedlichen pH-Werten erhöht [22].

2.3 Einsatzgebiete mariner Substanzen

Substanzen marinen Ursprungs sind in den letzten Jahrzehnten immer stärker in den Fokus wissenschaftlicher Untersuchungen gerückt. Da die Bandbreite sehr groß ist, soll der Schwerpunkt in dieser Arbeit auf die Substanzen gelegt werden, die Hauptbestandteile der untersuchten Alge *Ascophyllum nodosum* sind. *Ascophyllum nodosum* – zu Deutsch Knotentang – ist eine Braunalge, die vor allem im Nordatlantik heimisch ist. Schon 1954 entdeckten Vacca et al., dass ein ethanolischer Extrakt aus *Ascophyllum nodosum* eine Wirksamkeit gegenüber Bakterien (beispielsweise *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*) aufweist. Weiterhin stellten sie fest, dass diese Wirksamkeit in Abhängigkeit vom Erntezeitpunkt der Alge schwankte [23]. Welche Inhaltsstoffe allerdings für die Wirkung verantwortlich sind, war zu diesem Zeitpunkt unbekannt.

2.3.1 Fucoidan

Fucoidan ist ein sulfatiertes Polysaccharid, das in verschiedenen Braunalgen und auch in Wirbellosen vorkommt. Seine Aufgabe ist dabei nicht vollständig aufgeklärt, es ist jedoch zu vermuten, dass Fucoidan dazu beiträgt, eine Austrocknung der Algen zu verhindern. Zusätzlich wird davon ausgegangen, dass Fucoidan die Stabilität der Zellwände erhöht [24].

Ein Fucoidan-Oligosaccharid aus *Ascophyllum nodosum* kann die in Abbildung 2.3.1 folgende Struktur haben [25]:

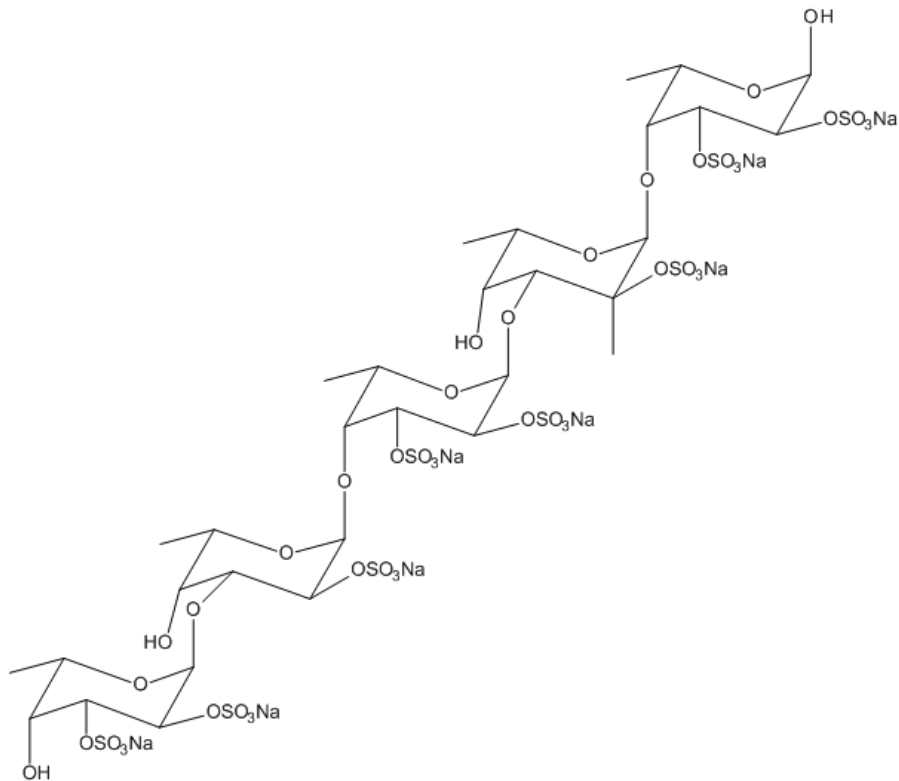


Abbildung 2.3.1: Struktur eines Oligosaccharides aus Fucoidan

Es ist deutlich zu erkennen, dass eine gewisse Lipophilie aufgrund der Methylreste an jedem Monomer und ausgeprägte Hydrophilie anhand der Sulfatreste und der Hydroxylgruppen erklärt werden kann. Es handelt sich hierbei um zwei Substituenten, die so oder ähnlich auch in bekannten Polymeremulgatoren wie HPMC (Methylreste) und HHM-HEC (Sulfonsäurereste) vorliegen (siehe Kapitel 2.2). Es kann angenommen werden, dass dieses Zusammenspiel hydrophiler und lipophiler Bausteine eine Ausrichtung, vergleichbar derjenigen aus Abbildung 2.2.1 (3) ermöglicht. Es handelt sich um ein verzweigtes Polymer, das an mehreren Stellen mit der dispersen Phase interagieren kann.

Es muss aber beachtet werden, dass die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Monomere, der Molekülaufbau, der Sulfatierungsgrad und auch die Position der Sulfatgruppen nicht nur zwischen den Spezies schwanken, sondern auch stark vom Erntezeitpunkt und dem Ort abhängen, an dem die Alge geerntet wird. Die konkrete Angabe einer Struktur wird schon durch diese

Umstände erschwert. Die analytische Herausforderung der Strukturaufklärung ist zusätzlich zu bewältigen.

Seit den 1970er Jahren wächst die Zahl an Veröffentlichungen in Bezug auf Fucoïdan stark an. Dabei werden einerseits Beiträge zur Extraktion und Strukturaufklärung geleistet, andererseits wird aber auch der Bioaktivität von Fucoïdan immer mehr Aufmerksamkeit gewidmet. In verschiedenen Untersuchungen konnten dabei Hinweise auf Wirkungen gegen Tumore, Stimulation von Immunantworten, antikoagulierende und antithrombotische Aktivität [26], Förderung von Zellwachstum und Hemmung der Spermienbindung an Eileiterzellen [3] gefunden werden. Zusätzlich wird Fucoïdan in Kosmetika eingesetzt um die Hautalterung zu verlangsamen [2].

Es wurden einige Patente zu Fucoïdan veröffentlicht, beispielsweise zu Methoden und Zusammensetzungen von Fucoïdan als Nahrungsergänzungsmittel oder Hautpflegeprodukt [27], als effektives haarstärkendes Mittel [28], aber auch zur Senkung der Blutkoagulation [29].

Die Extraktion von möglichst reinem Fucoïdan erfolgt häufig in mehrstufigen Prozessen, die zum Teil sehr aufwendig sind. Es werden unterschiedliche Lösemittel eingesetzt um Begleitstoffe zu entfernen, eine chromatographische Aufreinigung wird ebenfalls häufig durchgeführt. Auch enzymatische Extraktion von Fucoïdan ist möglich [30].

2.3.2 Alginat

Alginat ist das vorwiegende strukturgebende Polysaccharid in Braunalgen. Es besteht aus linear 1,4-verbundenem α -L-Guluronat und β -D-Mannuronat, die sowohl homo- als auch heteropolymer vorliegen können. In Abbildung 2.3.2 ist ein möglicher Ausschnitt eines solchen Heteropolymeres (nach [31]) dargestellt.

Es sind sowohl hydrophile Carboxylreste als auch lipophilere Methylreste über das Molekül verteilt, sodass eine Anlagerung an Grenzflächen vorstellbar ist.

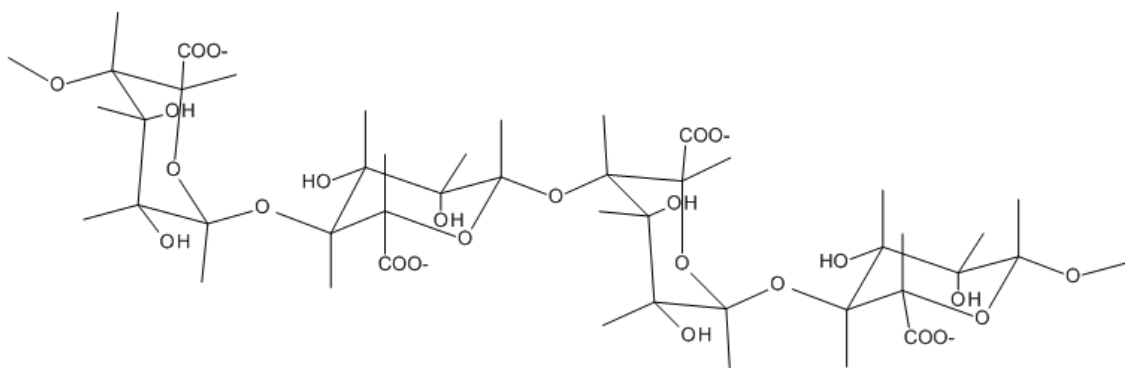


Abbildung 2.3.2: Heteropolymerer Ausschnitt von Alginat

Gehandelt werden Natrium-, Kalium- und Calciumalginat, Alginsäure und Propylenglycolalginat, die sich in ihrer Wasserlöslichkeit und Quellbarkeit unterscheiden. Wegen einer gewissen Quellbarkeit werden Alginat auch zur Stabilisierung von Emulsionen über eine Erhöhung der Viskosität eingesetzt.

Durch Zusatz von Calciumionen zu Alginatlösungen kann eine Gelierung erfolgen. Diese Gele werden vielfältig verwendet, beispielsweise als Wundauflagen, Materialien zur Erstellung von Zahnabdrücken oder auch zur kontrollierten Freigabe von Arzneistoffen [32].

Der Mechanismus der Gelbildung wurde zuerst von Grant et al. mit Hilfe des sogenannten Eierkarton-Modelles erklärt [33]. Dabei werden Calciumionen (dargestellt als Kreise) durch mehrere benachbarte und gegenüberliegende Guluronsäuremonomere (die Ketten) komplexiert und bilden so eine recht starre und feste Struktur aus.

Grants Modellvorstellung entspricht Abbildung 2.3.3:

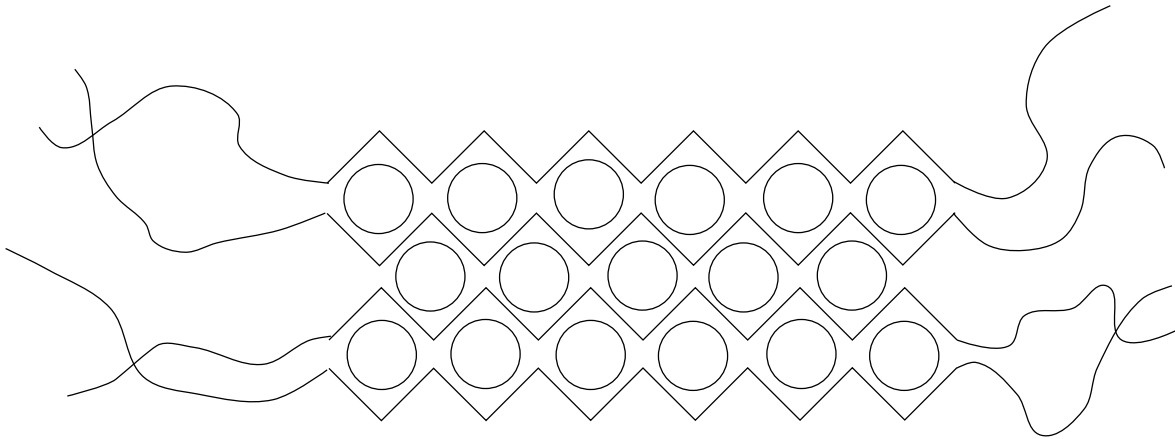


Abbildung 2.3.3: Das Eierkarton-Modell, das die Gelierung von Calciumalginat beschreibt (modifiziert nach {Grant 1973 #211})

Wenige Jahre später konnten Morris et al. allerdings zeigen, dass im Gegensatz zu der hier dargestellten Schichtstruktur hauptsächlich eine Dimerisierung der Polyguluronat-Blöcke erfolgt, die sich nur in Anwesenheit von überschüssigen Ca^{2+} -Ionen weiter zusammenlagern [34].

Neben der Zugabe von Calcium-Ionen gibt es eine weitere Möglichkeit zur Gelierung von Alginat: die Ausbildung von Alginsäuregelen durch den Zusatz starker Säuren. Draget et al. untersuchten den Einfluss der chemischen Zusammensetzung und des Molekulargewichtes von Alginat auf die Eigenschaften daraus hergestellter Alginsäuregele [35]. Sie konnten zeigen, dass die Gelbildung in guluronsäurehaltigen Abschnitten effektiver ist als die in mannuronsäurehaltigen Abschnitten. Der genaue Mechanismus der Gelbildung ist dabei allerdings noch nicht entschlüsselt. Ein Erklärungsversuch ist, dass durch die Säurezugabe eine Protonierung der Carboxylreste erfolgt, wodurch die Abstoßung gleichsinniger Ladungen reduziert wird und sich die Ketten näher aneinander lagern können.

3 Material

Wässrige Algenextrakte von CRM	
<i>Ascophyllum nodosum</i>	Knotentang Fucaceae Phaeophyceae (Braunalgen)
<i>Palmaria palmata</i>	Lappentang Palmariaceae Rhodoplantae (Rotalgen)
<i>Saccharina latissima</i>	Zuckertang Laminariaceae Phaeophyceae (Braunalgen)
<i>Ulva lactuca</i>	Meersalat Ulvaceae Chlorophyta (Grünalgen)
<i>Undaria pinnatifida</i>	Wakame Alariaceae Phaeophyceae (Braunalgen)

Ascophyllum nodosum		
grob gemahlen	Charge unbekannt	Alfred Galke GmbH Gittelde / Harz Deutschland
fein gemahlen	Chargen 8797, 17811, 21762 (französischer Zulieferer; Erntezeitpunkte 2008, 2011 und 2012)	Alfred Galke GmbH Gittelde / Harz Deutschland

Extraktions- und Lösemittel		
Wasser	bidestilliertes Wasser aus der hauseigenen FinnAqua Destillationsanlage	
Ethanol	Ethanol 99% vergällt mit Petrolether	Kraul & Wilkening & Stelling GmbH & Co Hannover Deutschland

Lipophile Emulsionsbestandteile		
mittelkettige Triglyceride	Miglyol® 812	Sasol Germany GmbH Hamburg Deutschland
dickflüssiges Paraffin	Merkur WOP 240 PB	Sasol Germany GmbH Hamburg Deutschland
hochviskose Triglyceride	Miglyol® 829	Sasol Germany GmbH Hamburg Deutschland
Oleyoleat	Cetiol®	Cognis GmbH Düsseldorf Deutschland

weitere Emulsionsbestandteile		
Benzylalkohol		Caesar & Loretz GmbH Hilden Deutschland
Carbomer	Carbopol 980 NF	The Lubrizol Corporation Wickliffe USA
Trometamol		Caesar & Loretz GmbH Hilden Deutschland

weitere Materialien		
Filterpapier	Grade 597	Whatman GmbH Dassel Deutschland

4 Methoden

4.1 Extraktion der Polysaccharide

Die Extraktion der Polysaccharide erfolgte (soweit sie nicht von CRM Kiel durchgeführt wurde) mittels Bewegungsmazeration auf einer Magnetrührplatte. Als Extraktionsmittel diente dabei (soweit nicht anders angegeben) bidestilliertes Wasser, das auf Raumtemperatur abgekühlt wurde. Die Parameter Ausgangsmaterial, Extraktionsdauer sowie das Verhältnis zwischen Alge und Wasser werden im Ergebnisteil unter Kapitel 5.5 näher untersucht und sind daher dort beschrieben.

Der wässrige Extrakt wurde schließlich durch Abzentrifugieren des Algenmaterials mit Hilfe einer Sigma 6-16K Zentrifuge (Sigma Laborzentrifugen GmbH, Osterode am Harz, Deutschland) bei 20°C und 9600 rpm über 45 Minuten abgetrennt. Sofern der Rohextrakt verwendet wurde, wurde der Überstand nach dem Zentrifugieren abdekantiert, durch Filterpapier von den verbleibenden Feststoffen befreit und mit Benzylalkohol als Konservierungsmittel versetzt (2% m/m).

Zur Aufreinigung der Polysaccharide wurde der filtrierte Überstand unter Rühren zu gleichen Teilen mit Ethanol versetzt, wodurch eine Ausfällung der Polysaccharide erfolgte. Dieser Rückstand wurde durch Zentrifugation bei den oben genannten Parametern von der Ethanol-Wasser-Mischung abgetrennt. Um sicher alle wasserunlöslichen Bestandteile zu entfernen, wurden diese Polysaccharide dann erneut in Wasser gelöst und bei gleichen Bedingungen erneut zentrifugiert und der Überstand wurde schließlich ein letztes Mal filtriert. Die so erhaltene Polysaccharidlösung wurde, wie unter Kapitel 4.2 beschrieben, gefriergetrocknet.

Innerhalb einer Versuchsreihe wurden Durchmischungen der Chargen vermieden, um keine zusätzlichen materialbedingten Unterschiede zwischen einzelnen Emulsionen zu erzeugen. Unterschiedliche Versuchsreihen wurden allerdings zum

Teil auch mit Extrakten aus unterschiedlichen Chargen durchgeführt, da die herstellbare Chargengröße stark beschränkt war.

4.2 Gefriertrocknung

Für die Versuche, bei denen es nötig war, den Extrakt- oder auch den Polysaccharidgehalt in der wässrigen Phase zu variieren, wurde der hergestellte Extrakt bzw. die Polysaccharidlösung in einem Klein GFT-6 – Gefriertrockner (Klein Vakuumtechnik, Freudenberg, Deutschland) getrocknet. In großen Schalen aus Edelstahl wurde der Extrakt zunächst bei -30 °C eingefroren und anschließend bei -30 °C und $0,370\text{ mbar}$ so lange getrocknet, bis die Temperatur des Gutes sich an die Stellflächentemperatur angeglichen hat, was ein Zeichen dafür ist, dass es durch Sublimationskälte nicht weiter gekühlt wurde, also kein Wasser mehr sublimieren konnte. Anschließend wurde bei erhöhter Temperatur von 20 °C und weiter reduziertem Druck das möglicherweise noch stärker anhaftende Wasser aus dem Gut entfernt.

Die nach der Trocknung noch im Gut vorhandene Restfeuchte wurde nicht bestimmt, daher wurde auch keine Einwaagekorrektur vorgenommen, um möglicherweise vorhandenes Wasser auszugleichen. Leichte Schwankungen zwischen verschiedenen Versuchsreihen könnten also zum Teil auch auf eine geringe Restfeuchte zurückzuführen sein. Da aber, wie bereits erwähnt, keine Chargen innerhalb einer Versuchsreihe durchmischt wurden, hat eventuell vorhandene Restfeuchte keine Auswirkungen auf beobachtete Trends.

4.3 Charakterisierung der Extrakte

4.3.1 Gravimetrische Bestimmung des Polysaccharidgehaltes

Um eine Einschätzung des gesamten Polysaccharidgehaltes in den unterschiedlichen Extrakten zu ermöglichen, wurde eine gravimetrische Bestimmung durchgeführt. Hierzu wurde der polysaccharidhaltige Extrakt mit einem Überschuss an Ethanol versetzt, was zu einer Ausfällung der Polysaccharide führte. Der Extrakt wurde mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe und eines Büchner-Trichters mit tariertem Filterpapier abfiltriert, das Filterpapier wurde getrocknet und der Polysaccharidrückstand konnte ausgewogen werden.

Diese einfache Bestimmung wurde gewählt, da auch bei der Aufreinigung der Polysaccharide die Präzipitation der Polysaccharide mit Ethanol erfolgte, und somit die tatsächlich verwendeten Substanzen quantifiziert werden konnten.

4.3.2 Brechungsindex

Der Brechungsindex der Extrakte wurde mit einem Abbé-Refraktometer bei Raumtemperatur bestimmt. Die Skala des Gerätes ermöglicht eine Genauigkeit von drei Stellen nach dem Komma, eine vierte Stelle wurde zusätzlich geschätzt.

4.3.3 Dichte

Zur Ermittlung der Dichte der Flüssigkeiten wurde ein Biegeschwinger DMA 48 (Anton Paar GmbH, Ostfildern-Scharnhausen, Deutschland) bei 22°C verwendet. Die Kalibrierung des Gerätes erfolgte durch die Vermessung von Wasser und Luft bei der entsprechenden Temperatur.

Das in dem Gerät befindliche U-Rohr wird dabei mit der zu untersuchenden Flüssigkeit gefüllt und anschließend in Schwingungen versetzt. Die Eigenfrequenz des gefüllten U-Rohres wird ermittelt, und da diese durch die Masse des schwingenden Teiles beeinflusst wird und das Volumen durch die Aufhängung des Rohres definiert ist, kann daraus die Dichte der Prüfflüssigkeit bestimmt werden.

4.3.4 Viskosität und Fließverhalten

Zur Untersuchung der Viskosität wurde das SV-10 Vibro-Viskosimeter (Malvern Instruments, Worcestershire, UK) verwendet. Die Messung erfolgte bei Raumtemperatur. Bei diesem Gerät werden zwei Platin-Platten in Vibration versetzt und aus dem Widerstand, den die Probe dieser Bewegung entgegensetzt kann nach Multiplikation mit der Dichte der Probe die dynamische Viskosität berechnet werden. Diese Messung ist nur dann sinnvoll, wenn es sich bei der Probe um eine idealviskose Flüssigkeit handelt, da es keine Möglichkeit gibt, das Schergefälle bzw. die Schubspannung zu beeinflussen oder zu bestimmen. Dennoch wurde an einigen Stellen auch in pseudoplastischen Extrakten bzw. Polysaccharidlösungen nur die im Vibro-Viskosimeter bestimmte Viskosität verwendet, um einen einzelnen Zahlenwert für die Betrachtung zu verwenden. Dieses Vorgehen ist als gerechtfertigt anzusehen, da das wesentliche Ziel der jeweiligen Untersuchungen ein Vergleich verschiedener Zubereitungen war. Der Absolutwert hingegen war von untergeordnetem Interesse.

Die Überprüfung des Fließverhaltens erfolgte an einem Bohlin Rheometer CVO 120 HRNF (Malvern Instruments, Worcestershire, UK) mit einem Zylinder-Becher-Aufbau. Das Schergefälle wurde zunächst von 0 auf 50 Umdrehungen pro Sekunde gesteigert und anschließend wieder auf 0 zurückgefahren.

4.3.5 Oberflächenspannung

Die Oberflächenspannung wurde mit dem Tensiometer K12 (Krüss GmbH, Hamburg, Deutschland) mit einer Wilhelmy-Platte bei Raumtemperatur bestimmt. Dazu wurde die Platinplatte 2 mm tief in die Flüssigkeit eingetaucht. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe der Software K122 der Firma Krüss.

4.4 Herstellung der Emulsionen

4.4.1 Vorhomogenisierung

Die Emulsionen wurden nach der Einwaage aller benötigten Substanzen zunächst bei Raumtemperatur mit einem Rotor-Stator-System (Ultra-Turrax® T25, IKA®-Werke GmbH & CO. KG, Staufen, Deutschland) so vorhomogenisiert, dass ein optisch homogenes Erscheinungsbild gegeben war. Die Geschwindigkeit und Dauer dieser Vorhomogenisierung wurde variiert und ist jeweils angegeben.

4.4.2 Hochdruckhomogenisierung

Die eigentliche Herstellung der Emulsionen erfolgte mittels Hochdruckhomogenisierung. Da die genauen Prozessparameter wesentlicher Bestandteil der Ergebnisse sind, wird auf sie in Kapitel 5 näher eingegangen. Hier soll nur das generelle Prinzip der Hochdruckhomogenisierung kurz erläutert werden.

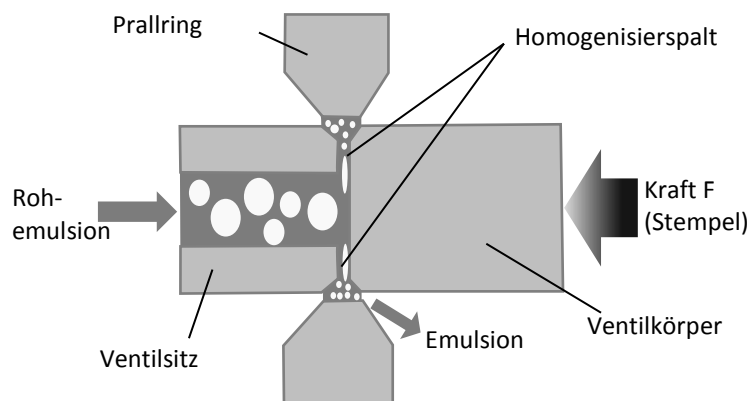


Abbildung 4.4.1: Funktionsprinzip eines Ring-Spalt-Homogenisators

Wie in Abbildung 4.4.1 zu sehen ist, wird eine Rohemulsion in den Homogenisator eingebracht. Die zunächst noch recht großen Tröpfchen werden durch einen Spalt gedrückt, der aus einem Prallring und einem Stempel gebildet wird. Der Druck kann hierbei über den Abstand zwischen Ring und Stempel reguliert werden. Der für die in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen verwendete Gaulin APV Hochdruckhomogenisator (Gaulin, Lübeck, Deutschland) lässt sich von 130 bar bis

1000 bar regulieren. Eine automatische Rückführung der Emulsion ist hier nicht möglich, jedoch kann die Emulsion manuell als „Rohemulsion“ erneut dem Prozess zugeführt werden. Eine solche Wiederholung wird als weiterer „Zyklus“ bezeichnet. Der Homogenisator bietet zwar die Möglichkeit einer Temperierung des Reservoirs, die Temperatur der Emulsionen wurde jedoch nicht aktiv beeinflusst. Je nach angewendetem Druck konnte eine Erwärmung auf etwa 45 °C beobachtet werden, der Temperatureinfluss wurde allerdings nicht gesondert betrachtet.

4.5 Charakterisierung der Emulsionen

4.5.1 Lichtmikroskopie

Die lichtmikroskopischen Aufnahmen wurden mit einem digitalen Keyence VHX 500 Lichtmikroskop (Keyence Deutschland GmbH, Neu-Isenburg, Deutschland) in 500facher Vergrößerung gemacht. Die Zubereitungen wurden unverdünnt auf einen Objektträger aus Glas gegeben und die Beleuchtung erfolgte mittels Durchlicht.

4.5.2 Lichtstreuung

Zur Untersuchung der Stabilität und der Tröpfchengröße der Emulsionen wurde das Prinzip der Mehrfachlichtstreuung ausgenutzt. Dafür wurde der Turbiscan™ der Firma Formulacion (L'Union, Frankreich) verwendet.

Ein Messkopf (Abbildung 4.5.1) mit einer Infrarot-Lichtquelle ($\lambda = 880 \text{ nm}$) und integriertem Detektor, sowohl für zurückgestreutes (45°) als auch für durchtretendes Licht (180°), fährt eine aus Glas bestehende Messzelle vom Boden bis zu einer Höhe von maximal 55 mm ab und detektiert alle 40 μm den Anteil an zurückgestreutem (BS) bzw. durchtretendem Licht (T).

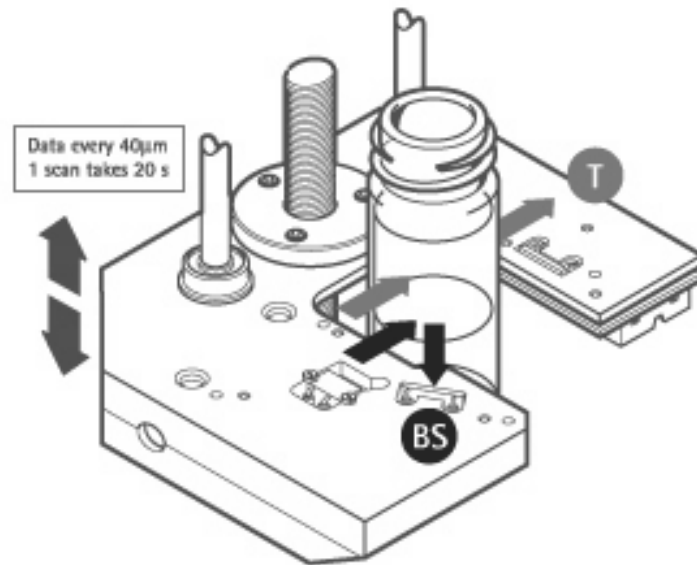


Abbildung 4.5.1: Messkopf des Turbiscan™

(von http://www.formulaction.com/images/turbiscan_head2.jpg)

Die dabei für Rückstreuung und / oder Transmission erhaltenen Werte werden zu jedem Messzeitpunkt grafisch gegen die entsprechende Höhe des Probengefäßes aufgetragen. Die Messwerte werden dabei relativ zu der Rückstreuung angegeben, die bei Vermessung einer Standardsuspension von monodispersen Kugeln in Silikonöl erhalten wird.

Eine Rückstreuung des Lichtes beruht auf Unterschieden im Brechungsindex der kontinuierlichen und der dispersen Phase und ist daher eine gut zugängliche Größe zur Charakterisierung von Emulsionen.

Durch die Detektion des zurückgestreuten Lichtes können in Emulsionen vor allem zwei wichtige Charakteristika untersucht werden, die in dieser Arbeit als Hauptindikatoren zur Beurteilung der Stabilität genutzt wurden. Nach der Mie-Theorie ist es möglich aus dem Anteil des zurückgestreuten Lichtes die durchschnittliche Tröpfchengröße zu ermitteln, sofern der Brechungsindex beider Phasen und das Phasenverhältnis bekannt sind. Aus diesen Bedingungen ergibt sich die Problematik, dass mit Hilfe dieser Methode nur die Tröpfchengröße in nicht-aufgerahmten oder -sedimentierten Emulsionen berechnet werden kann, da sonst das Phasenverhältnis auf einer bestimmten Höhe in unbekannter Weise

verändert ist. Allerdings ist es durchaus möglich zu beobachten ob eine Koaleszenz auftritt, da größere Tröpfchen das Licht weniger zurückstreuen als kleine. Diese Beziehung gilt dabei nur für Teilchen, die größer als die Wellenlänge des gestreuten Lichtes sind [36].

Weiterhin kann durch Messungen über einen längeren Zeitraum die Wanderung einer durch Aufrahmen erzeugten Phasengrenze verfolgt und ihre Geschwindigkeit berechnet werden. Jede Kurve steht dabei für einen Messzeitpunkt, an dem die gesamte Küvette einmal durch den Messkopf abgefahren wird. Anhand des sprunghaften Anstiegs der Rückstreuung an der Phasengrenze und dem bekannten Messzeitpunkt kann genau berechnet werden, mit welcher Geschwindigkeit sich die Phasengrenze nach oben bewegt.

Wie sich die beschriebenen Phänomene von Koaleszenz bzw. Aufrahmen bei dieser Analyseverfahren darstellen, wird in der folgenden Abbildung 4.5.2 gezeigt:

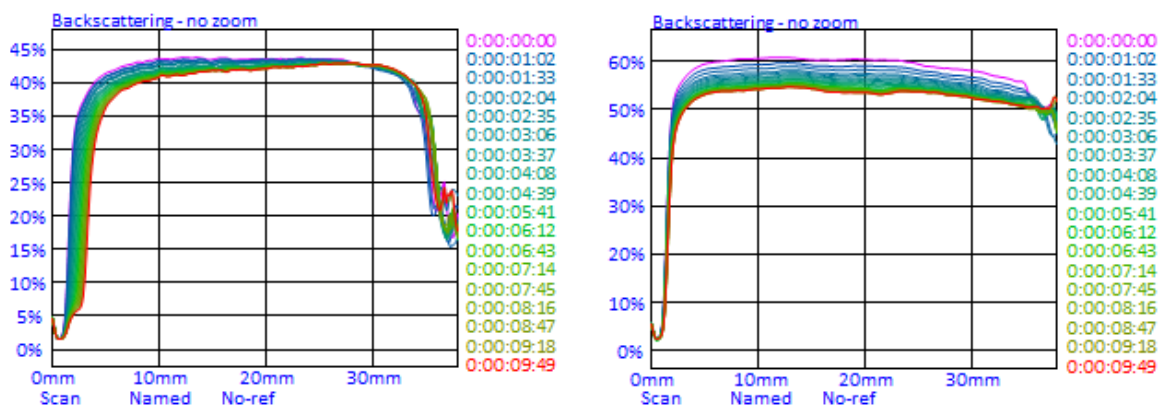


Abbildung 4.5.2. Darstellung von Aufräumung (links) und Koaleszenz oder Flockung (rechts) im Turbiscan™

In der linken Abbildung zeigt sich sehr deutlich, dass am Boden der Küvette eine Schicht nach oben (auf der x-Achse nach rechts) wandert, die Emulsion rahmt also auf. In der rechten Abbildung hingegen ist keine wandernde Phasengrenze zu erkennen, dafür sinkt der Anteil zurückgestreuten Lichtes über die gesamte Höhe der Küvette. Diese Beobachtung lässt sich durch eine Zunahme der

Tröpfchengröße, verursacht durch Flockung oder Koaleszenz erklären. Eine Unterscheidung zwischen Flockung und Koaleszenz ist so allerdings nicht möglich.

Ein Vergleich verschiedener Stabilitätsuntersuchungen kann zusätzlich mit Hilfe der Software Easysoft (Version 1.2.2; Formulacion 2005) durchgeführt werden. Hierzu werden die Rückstreuungskurven BST zeit (t)- und ortsabhängig (h) dargestellt und eine sogenannte Stability Kinetics-Kurve wird berechnet. Die Wertepaare für die Darstellung dieser Kurve werden wie in Gleichung (2) folgt bestimmt:

$$d_t = \frac{\sum_{h=\text{Boden}}^{h=\text{Meniskus}} |BST_{t_n, h} - BST_{t_0(=ref), h}|}{\text{Anzahl Messwerte}} \quad (2)$$

Nach Ermittlung dieser Stability Kinetics-Kurve kann die Software den Turbiscan Stabilitätsindex (TSI) berechnen. Dies geschieht nach der im Folgenden dargestellten Gleichung (3):

$$TSI_{t,h} = \frac{\sum_{t=\text{Start}}^{t=\text{Intervallende}} d_t}{\text{Anzahl Messwerte}} \quad (3)$$

Da die Unterschiede zwischen den aufgenommenen Rückstreuungskurven zeitlich und örtlich immer größer werden, je instabiler die Emulsionen sind, wächst dann auch der TSI. Im Gegensatz bedeutet also ein niedriger TSI, dass sich die Kurven kaum voneinander unterscheiden und die Emulsionen stabil sind. Ein Vergleich verschiedener TSI ist dabei nur dann sinnvoll, wenn gleiche Systeme betrachtet werden und der Vergleich nach der gleichen Zeit und auf der gleichen Probenhöhe erfolgt [36].

In dieser Arbeit wird zur Auswertung der mittlere Tröpfchendurchmesser bei vollgefüllter Küvette auf einer Höhe von 20 mm berechnet. Der Brechungsindex von der dispersen und der kontinuierlichen Phase wurde jeweils vor Herstellung der Emulsion bestimmt und diente als Berechnungsgrundlage. Der Anteil der

dispersen Phase auf der entsprechenden Höhe direkt nach der Herstellung war aufgrund der Einwaage bekannt. Auch die Berechnung des TSI erfolgte im Rahmen dieser Arbeit über die unteren 20 mm der Küvette aus den geglätteten Kurven der Rückstreuung.

4.6 Statistische Versuchsplanung

Die Erstellung und Auswertung statistischer Versuchspläne (Design of Experiments, DOE) erfolgte mit der Software Design-Expert (Version 8, StatEase Inc., Minneapolis, USA). Mit Hilfe der statistischen Versuchsplanung kann der Einfluss verschiedener sogenannter Faktoren auf einen oder mehrere Zielparameter untersucht werden. Dabei ist es auch möglich Wechselwirkungen zwischen unterschiedlichen Faktoren zu erkennen, was ausgeschlossen ist, wenn in einer Versuchsreihe nur ein Faktor zur gleichen Zeit verändert wird. Sofern nicht alle das Ergebnis beeinflussenden Parameter gesteuert werden können oder sollen, ist es allerdings notwendig, diese konstant zu halten oder durch Blockbildung mathematisch zu berücksichtigen.

Je nach Fragestellung kommen dabei verschiedene Modelle zum Einsatz. Die einfachsten Versuchspläne dienen dazu, die möglichen Faktoren zu gewichten. Dies geschieht, indem der Einfluss der unterschiedlichen Faktoren über eine hohe und eine niedrige Stufe variiert und die Zielgröße gemessen wird. So lässt sich herausfinden, welche der untersuchten Faktoren die Zielgröße signifikant beeinflussen und welche nicht. Auf diese Art werden allerdings nur lineare Zusammenhänge erhalten, unabhängig davon, ob dies der Realität entspricht oder nicht. Um nicht-lineare Zusammenhänge aufzudecken müssen daher mehr als zwei Stufen je Faktor untersucht werden. Da dies die Versuchsanzahl erhöht, sollten in solchen Optimierungsversuchsplänen möglichst nur relevante Faktoren einbezogen werden.

Schließlich gibt es Mischungsversuchspläne, die sich von den bisher genannten dadurch unterscheiden, dass für die Zusammensetzung der Einzelkomponenten

weniger die Gesamtmenge als vielmehr das Verhältnis zueinander für das Ergebnis ausschlaggebend ist. Weiterhin müssen alle betrachteten Komponenten insgesamt eine Summe von 100% ergeben. Dies führt zu anderen mathematischen Methoden der Auswertung. Zusätzlich können diese Mischungspläne mit anderen Designs, beispielsweise sogenannten optimalen Designs kombiniert werden, um sowohl den Einfluss einer Zusammensetzung, als auch beispielsweise der Prozessparameter, auf eine oder mehrere Zielgrößen zu untersuchen.

Nach der Aufstellung des Versuchsplanes erfolgt seine Evaluierung. Jede statistische Auswertung geht mit möglichen Fehlern einher, die der Bearbeiter kennen und berücksichtigen sollte. Je nach Fragestellung sind dabei gewisse Unsicherheiten besser oder schlechter zu tolerieren. Eine Möglichkeit der Beurteilung ist die Betrachtung des Standardfehlers und seiner Verteilung über den Versuchsraum. Sollte sich ein Optimum an einer Stelle des Versuchsraumes mit hohem Standardfehler befinden, ist es kritischer zu betrachten als an einer Stelle mit einem niedrigeren modellbedingten Standardfehler. Es empfiehlt sich daher, bereits vor der Durchführung der Versuche den Standardfehler mit der Lage eines erwarteten Optimums zu vergleichen.

Nach der Ermittlung der Zielgröße in Abhängigkeit von den unterschiedlichen Faktorkombinationen wird eine Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. So wird abgeschätzt, welche Schwankungen der Zielgröße rein zufällig sind und welche sich auf eine Veränderung der Faktoren zurückführen lassen. Zur Einstufung wird der sogenannte F-Wert (Quotient der Varianzen) berechnet und es wird durch den p-Wert angegeben, wie hoch die Wahrscheinlichkeit ist, dass ein Ergebnis wie das beobachtete nur rein zufällig eintritt. Je niedriger also der p-Wert, desto geringer ist die Wahrscheinlichkeit, ein solches Ergebnis nur zufällig zu erhalten.

Das aus den signifikanten Faktoren zusammengesetzte Modell kann schließlich hinsichtlich der Beschreibung der Daten anhand verschiedener Kenngrößen bewertet werden. Die wohl bekannteste ist R^2 , das angibt, welcher Teil der

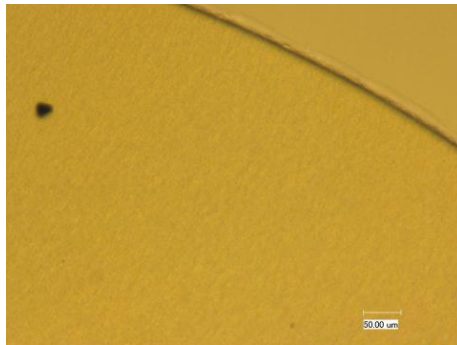
Unterschiede in den Daten durch das Modell erklärt wird. Da aber durch eine Überparametrisierung eine zwar sehr gute aber nicht sinnvolle Anpassung des Modelles an die Daten möglich ist, sollte eher das sogenannte adjusted R^2 betrachtet werden, in dem auch die Anzahl der im Modell verwendeten Parameter eingeht. Je näher adjusted R^2 an 1 ist, desto besser beschreibt das Modell die erhobenen Daten. Da aber die statistische Versuchsplanung auch zu Prognosezwecken eingesetzt wird, sollen nicht nur bereits gemessene sondern auch zukünftig zu erhebende Daten möglichst gut beschrieben werden. Diese Fähigkeit des Modelles wird durch das predicted R^2 angegeben. Naturgemäß ist predicted R^2 kleiner als adjusted R^2 , die Differenz sollte dabei jedoch einen Wert von 0,2 möglichst nicht überschreiten. Falls dies doch der Fall ist, sollten entweder die Daten oder das Modell in Frage gestellt werden.

5 Praktischer Teil

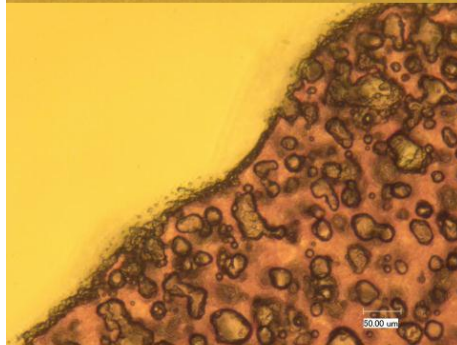
5.1 Screening verschiedener Algenextrakte

Um zu untersuchen, welcher Algenextrakt am ehesten zur Stabilisierung von Emulsionen geeignet ist, wurden einfache Vorversuche durchgeführt. Die Extraktion der in Kapitel 3 genannten Algen erfolgte dabei zunächst extern durch die Firma CRM. Das genaue Verfahren unterliegt dabei dem Betriebsgeheimnis. Die Auswahl der Algen erfolgte aufgrund des vergleichsweise hohen Polysaccharidgehaltes. Die von CRM hergestellten wässrigen Extrakte aus *Ascophyllum nodosum*, *Palmaria palmata*, *Saccharina latissima*, *Ulva lactuca* und *Undaria pinnatifida* wurden zunächst gefriergetrocknet. Es ist davon auszugehen, dass das so hergestellte Material einerseits Polysaccharide der entsprechenden Algen enthält, es werden aber auch Salze oder andere wasserlösliche Inhaltsstoffe vorhanden sein. Diese getrockneten Substanzen wurden nun jeweils durch Zugabe von Wasser in hochviskose Lösungen überführt. Da es sich um Kleinstansätze handelte wurde die Viskosität nicht gemessen sondern nur visuell beurteilt. Zu diesen Lösungen wurden mittelkettige Triglyceride (Anteil in der fertigen Zubereitung ca. 25%) gegeben und mit einem Ultra-Turrax® für drei Minuten bei 13500 rpm homogenisiert. Die so entstandenen Emulsionen wurden schließlich mikroskopisch im Hinblick auf ihre Homogenität beurteilt.

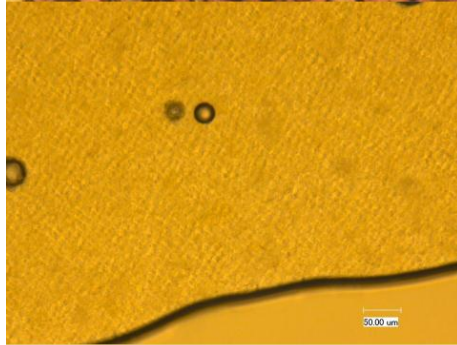
Die genaue Zusammensetzung der unterschiedlichen Emulsionen und die mikroskopischen Bilder (500fache Vergrößerung; Maßstab 50 µm) der hier beschriebenen Emulsionen sind in Abbildung 5.1.1 dargestellt.



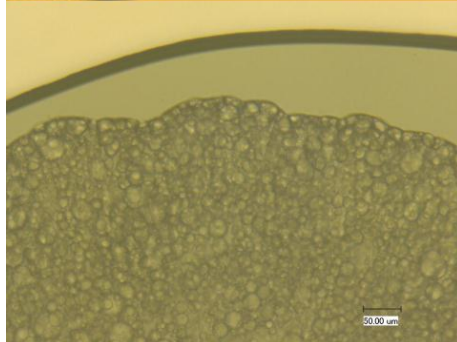
Ascophyllum nodosum
31,0% Trockenextrakt
42,5% Wasser
26,5% mittelkettige Triglyceride



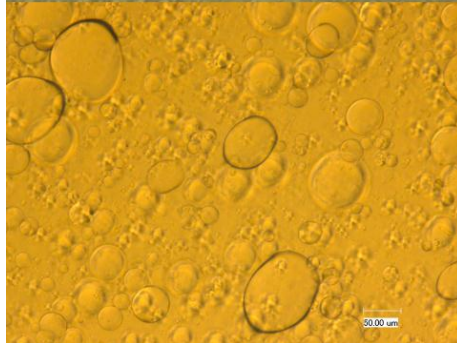
Palmaria palmata
52% Trockenextrakt
24,2% Wasser
23,8% mittelkettige Triglyceride



Saccharina latissima
43,3% Trockenextrakt
33,1% Wasser
23,6% mittelkettige Triglyceride



Ulva lactuca
19,7% Trockenextrakt
55,8% Wasser
24,7% mittelkettige Triglyceride

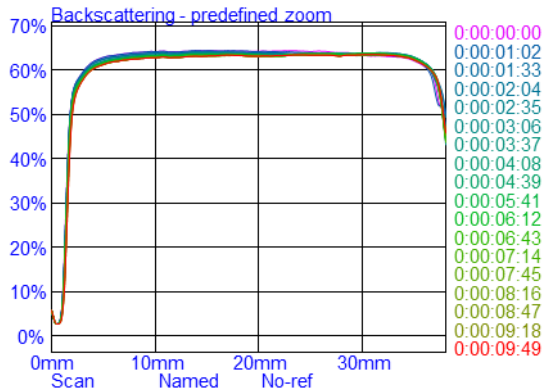


Undaria pinnatifida
4,3% Trockenextrakt
70,9% Wasser
24,8% mittelkettige Triglyceride

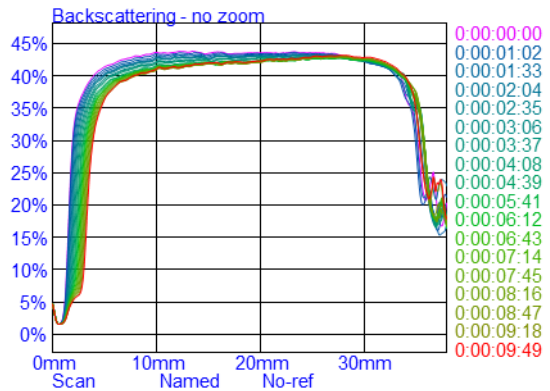
Abbildung 5.1.1: Emulsionen aus hochkonzentrierten Polysaccharidlösungen verschiedener Algen, 500fache Vergrößerung, Maßstab 50 µm

Auffällig ist hier zunächst der niedrige Trockengehalt der Emulsion aus *Undaria pinnatifida*, die Viskosität der Lösung war jedoch vergleichbar mit der der übrigen Lösungen. Der Vergleich der Bilder zeigt, dass annähernd homogene Emulsionen nur mit den Extrakten aus *Ascophyllum nodosum* und *Saccharina latissima* hergestellt werden konnten. Die Emulsion aus Extrakt von *Palmaria palmata* zeigt ein unregelmäßiges Aussehen mit sehr vielen vergleichsweise großen Tröpfchen. Der Extrakt aus *Ulva lactuca* war zwar in der Lage, etwas kleinere Tröpfchen zu stabilisieren, der Rand der Probe zeigt jedoch deutlich, dass schon der leichte Druck des Deckgläschen zu einer Entmischung der Phasen führt. Auch der Extrakt aus *Undaria pinnatifida* bewirkt keine homogene Verteilung feiner Tröpfchen der lipophilen Phase sondern lässt weiterhin relativ große Tröpfchen erkennen.

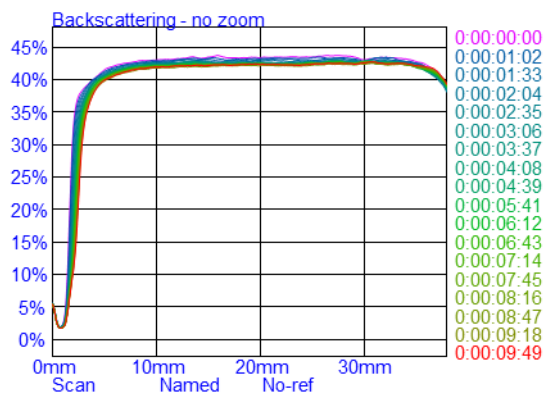
Zum weiteren Vergleich der mit Extrakten aus diesen fünf Algen stabilisierten Emulsionen wurden außerdem Zubereitungen hergestellt, bei denen direkt der von CRM hergestellte Extrakt verwendet wurde. Dieser wurde mit der gleichen Masse an mittelkettigen Triglyceriden (resultierender lipophiler Anteil 50% m/m) versetzt und mit einem Ultra-Turrax® für zwei Minuten bei 13500 rpm homogenisiert. Die so hergestellten Emulsionen wurden im Turbiscan™ über zehn Minuten verglichen. Dabei wurden die in Abbildung 5.1.2 folgenden Diagramme erhalten:



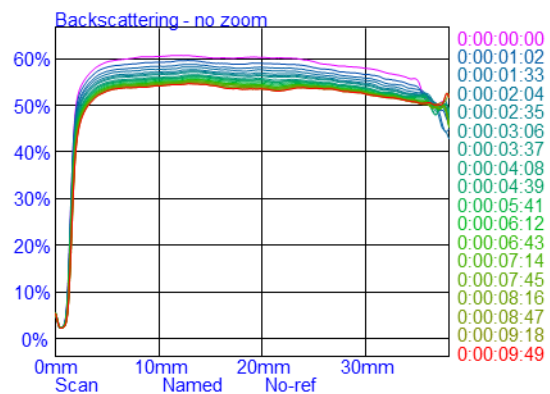
Ascophyllum nodosum



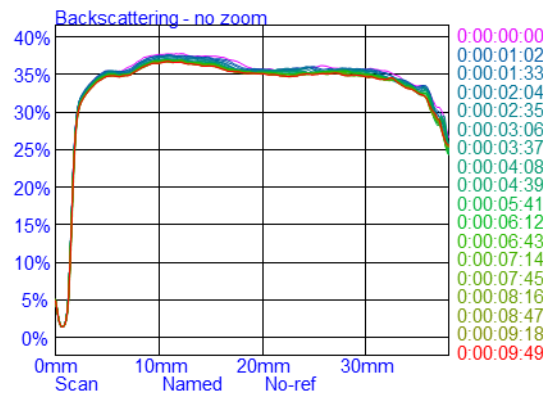
Palmaria palmata



Saccharina latissima



Ulva lactuca



Undaria pinnatifida

Abbildung 5.1.2: Turbiscan™-Diagramme der Emulsionen mit 50% mittelkettigen Triglyceriden aus verschiedenen ungetrockneten Algenextrakten, hergestellt von CRM

Auch hier ist zu erkennen, dass bereits innerhalb einer Messzeit von zehn Minuten deutliche Unterschiede zwischen den Emulsionen bestehen. Eine wandernde Phasengrenze, verursacht durch Aufrahmungerscheinungen, ist vor allem bei den Emulsionen zu erkennen, die mit dem Extrakt aus *Palmaria palmata* bzw. aus

Saccharina latissima hergestellt wurden. Die stärkste Koaleszenz (sinkende Rückstreuung über die gesamte Höhe des Probengefäßes) ist bei der Emulsion zu erkennen, die mit dem Extrakt aus *Ulva lactuca* hergestellt wurde, gefolgt von derjenigen mit Extrakt aus *Undaria pinnatifida*. Die Emulsion, die durch den Extrakt aus *Ascophyllum nodosum* stabilisiert wurde, zeigt weder Koaleszenz noch Aufrahmen so stark ausgeprägt wie die anderen Emulsionen.

Da beide Vorversuche dafür sprechen, dass der Extrakt aus *Ascophyllum nodosum* die besten emulsionsstabilisierenden Eigenschaften zeigt, liegt der Fokus dieser Arbeit auf der Verwendung ebendieses Extraktes.

5.2 Voruntersuchungen zur Hochdruckhomogenisierung

Wie bereits in Kapitel 4.4 beschrieben, sind die Variationsmöglichkeiten am verwendeten Hochdruckhomogenisator begrenzt auf die Variation des Druckes und der Temperatur im Vorratsgefäß, wobei letztere nicht variiert wurde. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, eine bereits homogenisierte Emulsion erneut in den Homogenisator zu geben (in dieser Arbeit als Anzahl der Zyklen bezeichnet). Der Einfluss der einzelnen Variationsmöglichkeiten wird hier zunächst separat betrachtet um eine erste Einschätzung zu ermöglichen.

5.2.1 Einfluss der Zyklenanzahl

Als Modellemulsion wurde eine Emulsion eingesetzt, die aus dem von CRM hergestellten ungetrockneten Extrakt aus *Ascophyllum nodosum* und 25% (m/m) mittelkettigen Triglyceriden besteht. Diese Versuche wurden in einem Druckbereich von 130 bar bis 300 bar durchgeführt um auch einen ersten Eindruck vom Einfluss des Druckes zu erhalten. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.2.1 dargestellt.

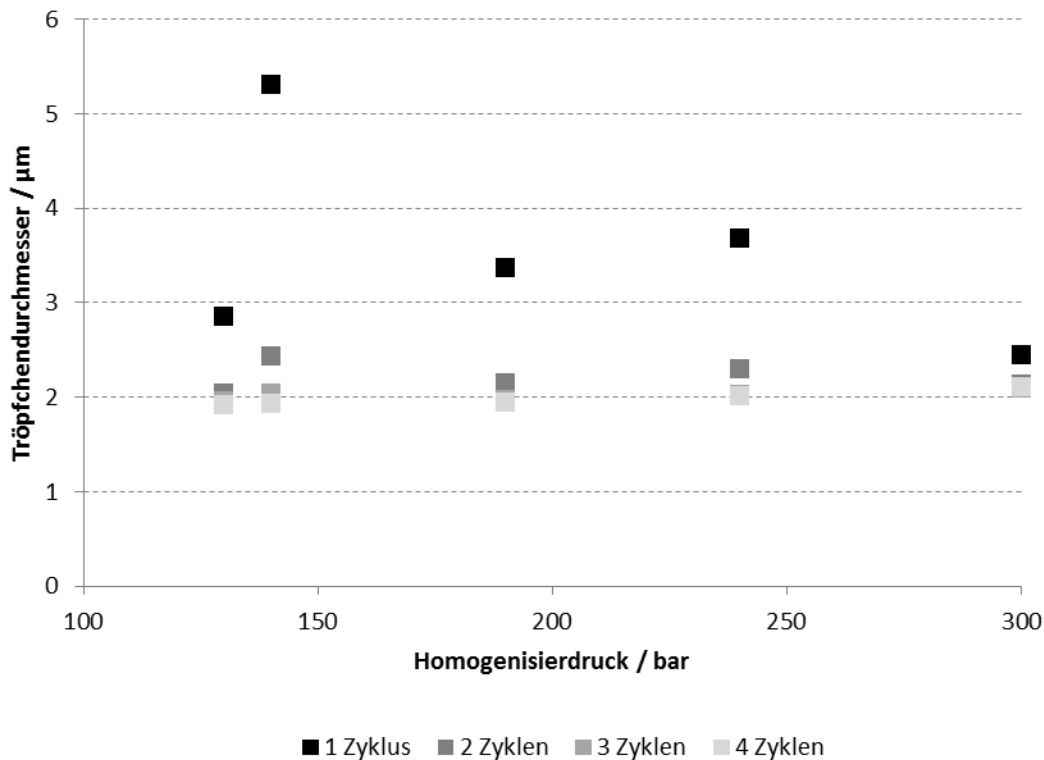


Abbildung 5.2.1: Veränderung der Tröpfchengröße mit Erhöhung des Homogenisierdruckes und steigender Anzahl der Zyklen ($n = 1$)

Es zeigte sich, dass der Tröpfchendurchmesser druckunabhängig durch eine steigende Zyklenzahl verringert werden kann. Dieser Einfluss ist vor allem bei einer Erhöhung von einem auf zwei Zyklen sehr stark ausgeprägt. Außerdem ist auffällig, dass bei nur einfacher Homogenisierung der Druck keinen eindeutig ausgeprägten Einfluss auf die Tröpfchengröße ausübt. Es ist als wahrscheinlicher anzusehen, dass die hier von 2,5 μm bis 5,3 μm erzielten Tröpfchengrößen durch Zufallsschwankungen beeinflusst werden, als dass tatsächlich bei 150 bar deutlich größere Tröpfchen entstehen als bei höherem oder geringerem Druck. Auch nach zwei Zyklen liegt noch kein durch den Homogenisierdruck hervorgerufener Trend vor, die Tröpfchengrößen schwanken aber nur noch zwischen 2,0 μm und 2,4 μm . Im Vergleich zwischen drei und vier Zyklen wird nur noch eine minimale Verringerung der Tröpfchengröße durch den zusätzlichen Zyklus erreicht. Außerdem ist nach vier Zyklen ein (wenn auch geringer) Einfluss des Druckes eindeutig zu erkennen: mit steigendem Druck wachsen die Tröpfchen von 1,9 μm

auf 2,1 μm . Inwieweit dieser geringe Unterschied in der Tröpfchengröße als stabilitätsrelevant anzusehen ist, wird in späteren Untersuchungen betrachtet.

Im Folgenden werden daher alle Emulsionen (soweit nicht anders erwähnt) durch eine vierfache Homogenisierung hergestellt.

5.2.2 Einfluss des Homogenisierdruckes

Bereits in Kapitel 5.2.1 war zu erkennen, dass der Homogenisierdruck einen Einfluss auf die Tröpfchengröße ausübt. Dieser soll nun genauer untersucht werden. Dazu wurden beispielhaft Emulsionen aus dem von CRM hergestellten Extrakt von *Ascophyllum nodosum* unter Anwendung verschiedener Drücke hergestellt. Der niedrigste untersuchte Homogenisierdruck liegt dabei bei 130 bar und er wurde zunächst auf 720 bar begrenzt. Auch der Ölgehalt wurde hier zwischen 5% (m/m) und 25% (m/m) variiert um zu ermitteln, ob auch dieser einen Einfluss auf den Effekt des Druckes hat. Dabei konnten die in Abbildung 5.2.2 folgenden Ergebnisse ermittelt werden.

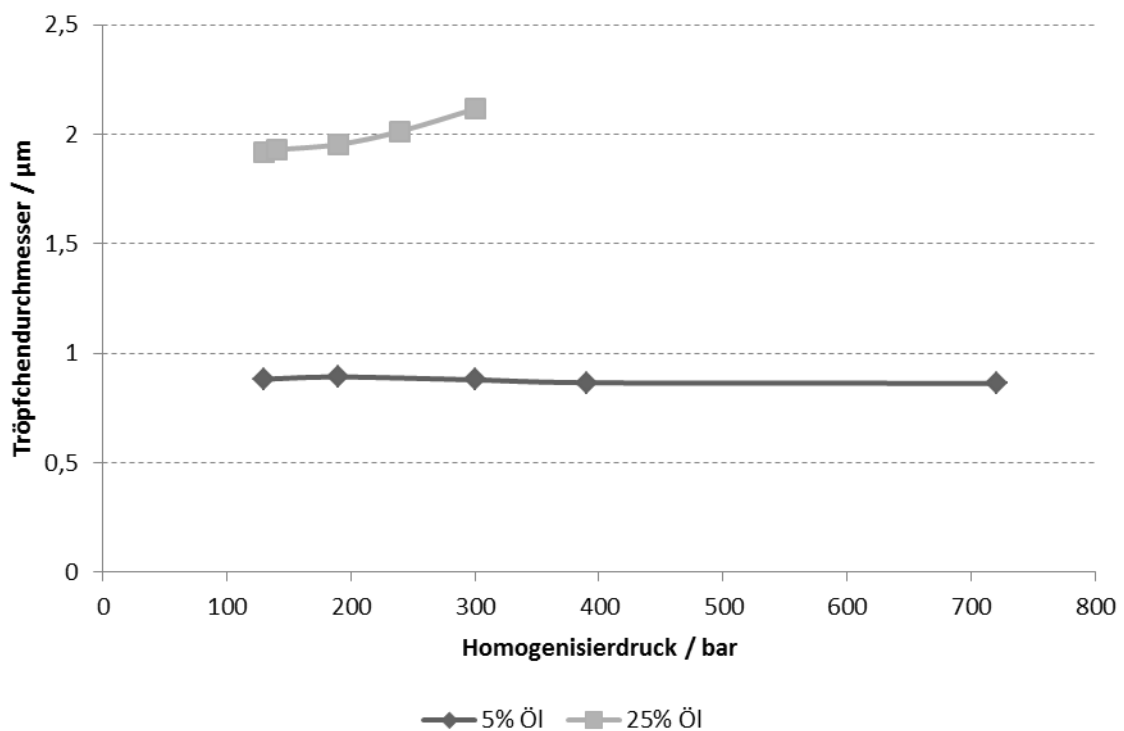


Abbildung 5.2.2: Einfluss des Homogenisierdruckes auf die Tröpfchengröße in Abhängigkeit vom Ölgehalt ($n = 1$)

Es ist dabei deutlich zu erkennen, dass ein steigender Druck bei hohem Ölgehalt eine Vergrößerung der Tröpfchen von 1,9 μm auf über 2,1 μm bewirkt, während bei nur 5% Öl die Tröpfchen mit steigendem Druck geringfügig kleiner werden (von 0,88 μm sinkt die Tröpfchengröße auf 0,86 μm). Beides sind Phänomene, die auch bereits in der Literatur beschrieben wurden [37]. Die größeren Tröpfchen bei erhöhtem Druck kommen dadurch zustande, dass zwar primär aufgrund des höheren Energieeintrages kleinere Tröpfchen gebildet werden, diese jedoch sofort koaleszieren, da die Stabilisierung beispielsweise aufgrund zu geringer Emulgatormengen nicht möglich ist. Diese Beobachtungen haben zur Folge, dass für eine Optimierung der Emulsionsstabilität Druck und Zusammensetzung (bisher bezogen auf den Ölgehalt) nicht getrennt voneinander betrachtet werden dürfen.

5.3 Voruntersuchungen zur Zusammensetzung der Emulsionen

5.3.1 Einfluss des Ölgehaltes

Zunächst wurde der Einfluss des Ölgehaltes auf die Stabilität der Emulsionen näher untersucht. Hierzu wurde erneut der von CRM hergestellte ungetrocknete Extrakt aus *Ascophyllum nodosum* verwendet. Die Homogenisierung erfolgte bei einem Homogenisierdruck von 130 bar jeweils innerhalb von vier Zyklen. Der Ölgehalt wurde ausgehend von 5% in ebenfalls vier Schritten auf 25% erhöht. Ausgewertet wurde hier sowohl der Tröpfchendurchmesser direkt nach der Herstellung als auch die Stabilität (anhand des TSI) der Zubereitungen über einen Zeitraum von zwölf Stunden. Die Beobachtungen sind in Abbildung 5.3.1 dargestellt.

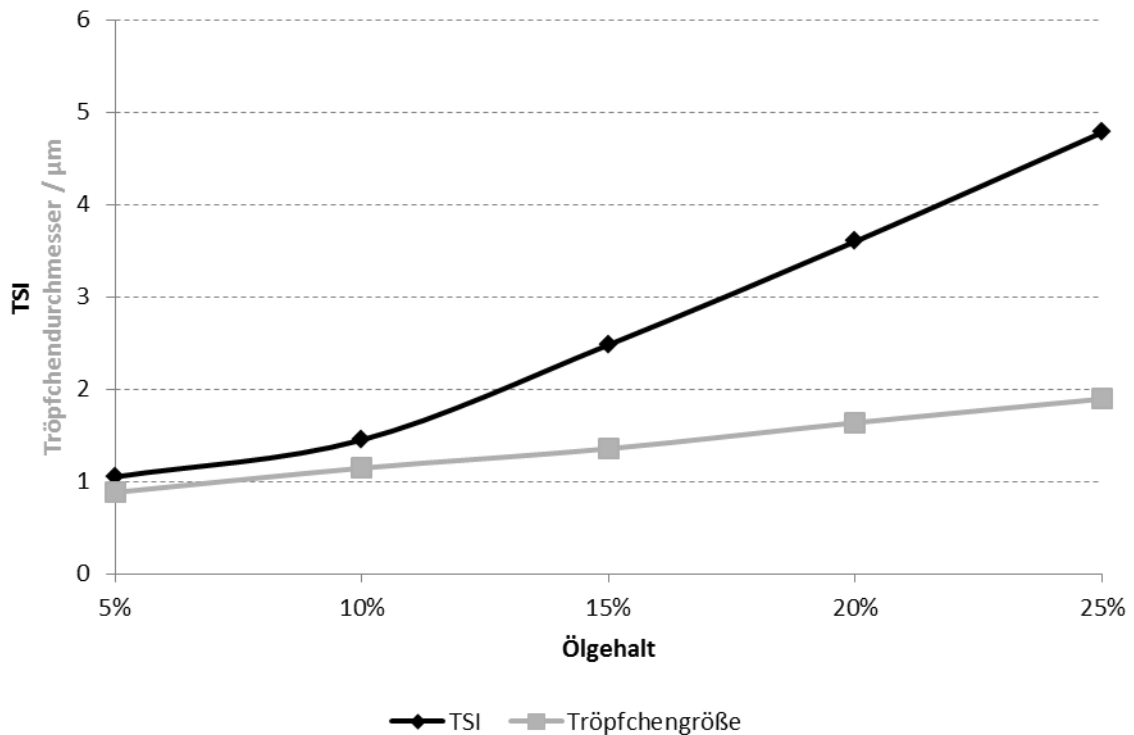


Abbildung 5.3.1: Abhängigkeit der Emulsionsstabilität und der Tröpfchengröße vom Ölgehalt der Emulsionen ($n = 1$)

Die Tröpfchengröße steigt unter diesen Bedingungen annähernd linear von 0,88 μm bei 5% Öl auf 1,89 μm bei 25% Öl an. Der TSI steigt ebenfalls mit steigendem Ölgehalt, die Zubereitung wird also instabiler, je mehr Öl verwendet wird. Ab einem Ölgehalt von 10% ist auch dieser Zusammenhang annähernd linear, da der TSI aber nur eine relative Größe ist, sollte diesem Umstand nicht zu viel Bedeutung beigemessen werden.

5.3.2 Einfluss des Extraktgehaltes

Da zu erwarten ist, dass die Emulsionen stabiler werden, je mehr Emulgator enthalten ist, wurde ein Teil des von CRM erhaltenen Extraktes aus *Ascophyllum nodosum* gefriergetrocknet. Dieser wurde dem ungetrockneten Extrakt der gleichen Charge in unterschiedlichen Anteilen zugesetzt, um Extrakte unterschiedlicher Polysaccharidkonzentration zu erhalten. Als lipophile Phase wurden jeweils 15% mittelkettige Triglyceride gewählt, um die Mitte des bisher untersuchten Bereiches abzubilden. Die Homogenisierung erfolgte über 4 Zyklen bei einem vergleichsweise hohen Druck von 750 bar, da das Ziel darin bestand,

Einflüsse aufzudecken und nicht, möglichst stabile Emulsionen herzustellen. Der Anteil an gefriergetrocknetem Extrakt, der jeweils noch zu dem Extrakt von CRM zugesetzt wurde, betrug zwischen 0% und 10%. Eine Messung der Rückstreuung nach vierwöchiger Lagerung der Emulsionen unter Laborbedingungen zeigt das in Abbildung 5.3.2 folgende Bild:

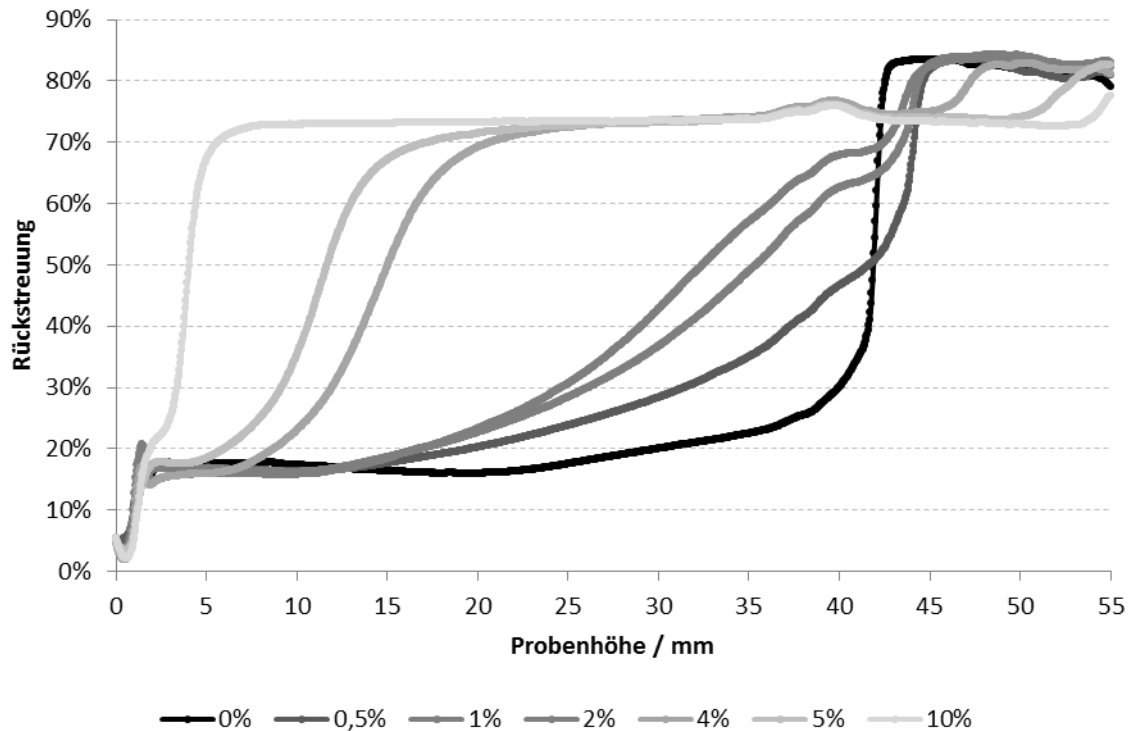


Abbildung 5.3.2: Einfluss des Zusatzes an Trockenextrakt auf die Stabilität der Emulsionen
Anhand der Lage der Phasengrenze (Anstieg der Rückstreuung auf einer bestimmten Höhe der Probe) ist zu erkennen, dass nach vier Wochen deutliche Unterschiede zwischen den Emulsionen mit unterschiedlichem Extraktgehalt existieren. Die Emulsion ohne weiteren Zusatz von Trockenextrakt zeigt eine Phasengrenze bei ca. 45 mm Probenhöhe, wohingegen die Phasengrenze der Emulsion mit dem höchsten Zusatz an Trockenextrakt nur bei ca. 4 mm zu sehen ist. Es ist eindeutig zu sehen, dass die Phasengrenze immer langsamer wandert, je höher der Extraktgehalt ist. Dieses Ergebnis ist nicht verwunderlich, es sollte jedoch untersucht werden, ob es auf eine Veränderung in der Oberflächenspannung der Extrakte, eine Erhöhung der Viskosität, auf eine erhöhte

Menge an emulgierender Substanz oder auch auf Wechselwirkungen aller dieser Aspekte zurückzuführen ist. Daher wurden sowohl die Viskosität und Oberflächenspannung der Polysaccharidlösungen (also der äußeren Phase der Emulsionen) als auch die resultierende Tröpfchengröße der Emulsionen bestimmt.

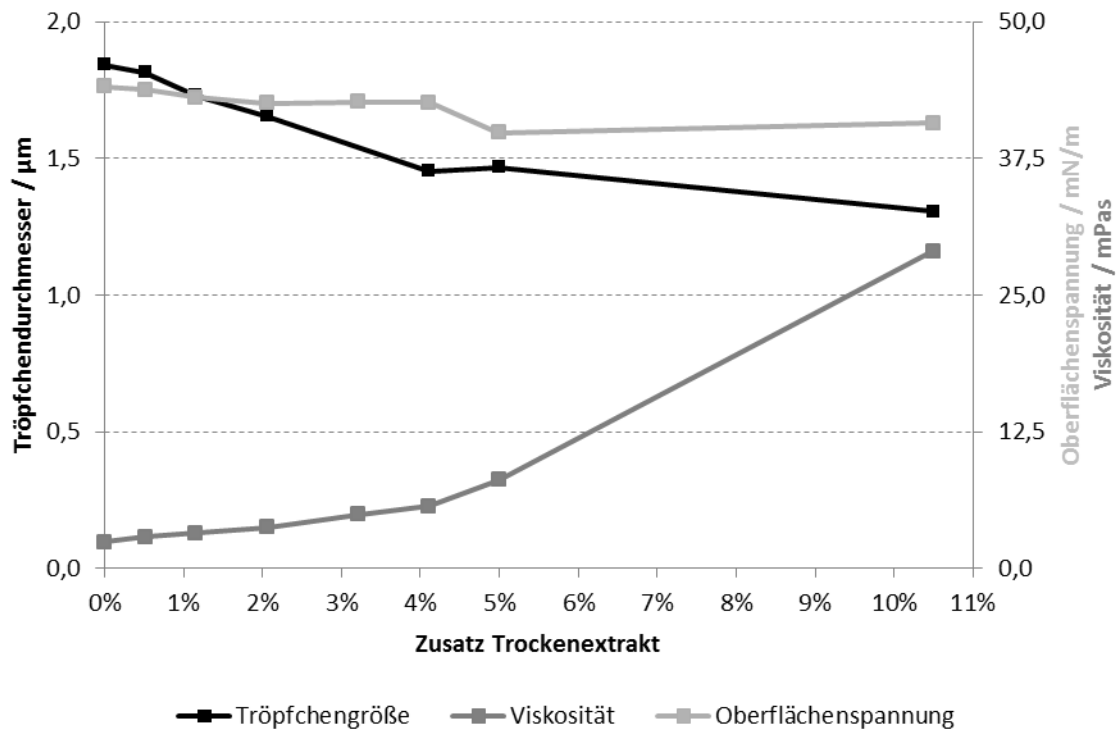


Abbildung 5.3.3: Veränderung von Viskosität und Oberflächenspannung der Extrakte mit unterschiedlichem Trockengehalt und resultierender Tröpfchengröße der Emulsionen ($n = 1$)

Die entsprechenden Graphen sind in der folgenden Abbildung 5.3.3 dargestellt.

Die Oberflächenspannung (hellgrau) der Polysaccharidlösungen sinkt zwar mit steigendem Gehalt an Trockenextrakt leicht ab, ist aber im Vergleich zu klassischen Emulgatoren mit etwas über 40 mN/m vergleichsweise hoch. Die Viskosität der Lösungen (dunkelgrau) steigt leicht an, jedoch ist ein Anstieg von knapp 2,5 mPa · s auf 30 mPa · s nicht als allein stabilitätsrelevant zu bewerten. Es kann daher vermutet werden, dass vor allem die erhöhte Menge an grenzflächenaktiven Polysacchariden dazu führt, dass auch die Oberfläche von kleineren Tröpfchen stabilisiert wird, was die Stabilität der Emulsionen erhöht. Dazu passend ist zu sehen, dass die Tröpfchengröße (schwarz) der Emulsionen mit steigendem Zusatz

an Trockenextrakt von $1,8\ \mu\text{m}$ auf $1,3\ \mu\text{m}$ sinkt. Die erhöhte Stabilität der Emulsionen mit einem höheren Trockenextraktgehalt ist daher vermutlich vor allem auf die kleineren Tröpfchen zurückzuführen, deren Aufrahmen zusätzlich durch die leicht ansteigende Viskosität verlangsamt wird.

5.4 Einfluss von Ölgehalt und Homogenisierdruck

Nachdem sowohl der Ölgehalt als auch der Homogenisierdruck in den vorangehenden Untersuchungen im Wesentlichen unabhängig voneinander betrachtet wurden, sollte nun eine erste zusammenführende Untersuchung der beiden Parameter durchgeführt werden. Da zunächst noch mit dem von CRM hergestellten Extrakt gearbeitet wurde, blieb der Extraktgehalt hier unberücksichtigt. Insgesamt wurden neun Emulsionen hergestellt, deren Ölgehalt 5%, 15% und 25% betrug. Als Homogenisierdruck wurden 130 bar, 250 bar und 500 bar verwendet (hier über fünf Zyklen). Als Indikator für die Stabilität der Emulsionen wurde auch hier die Tröpfchengröße direkt nach der Herstellung herang

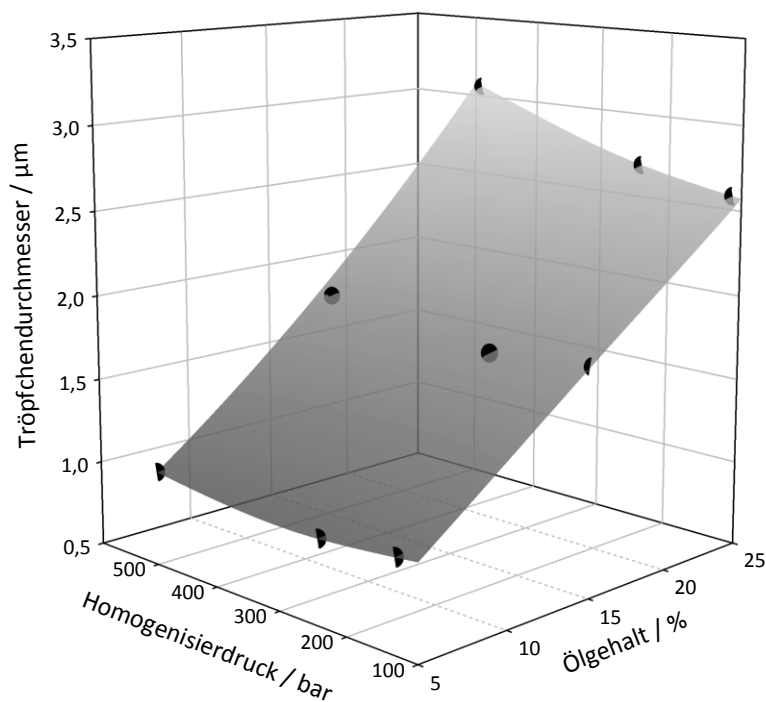


Abbildung 5.4.1: Einfluss von Homogenisierdruck und Ölgehalt auf den Tröpfchendurchmesser der Emulsionen

Dabei wird deutlich, dass der Einfluss des Ölgehaltes deutlich größer ist als der des Druckes, dass aber dennoch auch der Homogenisierdruck die entstehende Tröpfchengröße beeinflusst. Je mehr Öl die Emulsionen enthielten, desto größer waren die entstehenden Tröpfchen ($< 1 \mu\text{m}$ bei nur 5% Öl und $2,5 - 3 \mu\text{m}$ bei 25% Öl), während je nach Ölanteil entweder ein optimaler Druck im Bereich zwischen 130 bar und 500 bar existiert oder eine Erhöhung des Druckes (vor allem bei hohem Ölgehalt) zu einer Vergrößerung des Tröpfchendurchmessers führte. Diese Erkenntnis bestätigt, dass die Zusammensetzung der Emulsionen und der Herstellungsprozess nicht getrennt voneinander untersucht werden sollten.

Da jedoch zu erwarten war, dass auch die Qualität des Extraktes einen starken Einfluss auf die Stabilität der Emulsionen hat, wurde zunächst der Extraktionsprozess näher betrachtet. Ein Zusammenhang zwischen Polysaccharidgehalt, Ölgehalt und Homogenisierdruck wird schließlich in Kapitel 5.6 hergestellt.

5.5 Optimierung des Extraktionsprozesses

Zu Beginn der Untersuchungen wurde mit dem von CRM hergestellten Extrakt aus *Ascophyllum nodosum* gearbeitet, es sollte jedoch auch eine Optimierung des Extraktionsprozesses stattfinden.

Da ein guter Extrakt verschiedenen Anforderungen bezüglich Gehalt und Emulgierereigenschaften der Polysaccharide genügen sollte, wurden unterschiedliche Kriterien zum Vergleich der Extrakte herangezogen:

Zunächst wurde ein möglichst hoher Gehalt an Polysacchariden gewünscht, wobei die Polysaccharide auch möglichst quantitativ aus der Alge in den Extrakt überführt werden sollten. Der Polysaccharidgehalt im Extrakt wurde gravimetrisch durch Ausfällen mit Ethanol bestimmt (siehe Kapitel 4.3.1). Weiterhin soll aber auch die Qualität der durch den Extrakt hergestellten Emulsionen möglichst hoch sein. Die

Vergleichbarkeit der Emulgierfähigkeit wurde erreicht, indem zunächst mit jedem Extrakt vier verschiedene Emulsionen („Markeremulsionen“) hergestellt wurden. Hierbei wurde der Ölgehalt zwischen 5% und 25% und der Druck im Hochdruckhomogenisator zwischen 130 bar und 500 bar variiert, sodass aus jedem Extrakt vier unterschiedliche Emulsionen hergestellt wurden. Hintergrund ist, dass wie bereits in den Abschnitten 5.3 und 5.4 beschrieben wurde, sowohl der Ölanteil als auch der Homogenisierdruck einen Einfluss auf die Emulsionsstabilität haben. Je kleiner dabei der Unterschied zwischen den vier Emulsionen ist, desto höher ist die Emulgierkapazität des Extraktes. Um den Vergleich zu erleichtern werden in den entsprechenden Abbildungen Flächen dargestellt, deren Eckpunkte den Markeremulsionen entsprechen. Bei der Betrachtung muss dabei berücksichtigt werden, dass diese Flächen nicht unbedingt der Realität entsprechen. Es wäre ebenso denkbar, dass Minima oder Maxima der Tröpfchengröße zu finden sind.

Zusätzlich wurde der Absolutwert der beobachteten Tröpfchengröße dieser vier Emulsionen als Kriterium herangezogen: je kleiner die entstehenden Tröpfchen, desto stabiler die Emulsion.

Zunächst wurde dabei das gleiche Algenmaterial verwendet, das auch bei CRM zum Einsatz kam (grob gemahlene Alge) und der Prozess wurde variiert. Da die genaue Vorgehensweise von CRM ein Betriebsgeheimnis ist, kann hier kein konkreter Vergleich der Prozesse dargestellt werden. Der Extrakt von CRM führt bei der oben beschriebenen Vorgehensweise zu Emulsionen mit einem minimalen Tröpfchendurchmesser von 1,02 μm .

5.5.1 Fraktionierung des groben Algenmaterials

Das grobe Algenmaterial wurde auf einem Siebturm fraktioniert, um zunächst auf einfache Weise den Einfluss des Zerkleinerungsgrades auf das Extraktionsergebnis zu ermitteln. Dabei wurden drei Siebfraktionen miteinander verglichen: 0 – 1000 μm , 1000 – 1250 μm und 1250 – 1600 μm . Zu erwarten wäre dabei, dass aufgrund der im Verhältnis größeren Oberfläche aus dem kleinsten Material die

höchste Ausbeute erzielt werden kann. Für jede dieser Fraktionen wurde ein Massenteil Alge mit zehn Masseteilen heißem (ca. 70°C) bidestilliertem Wasser (1 + 10) versetzt und auf einer Magnetrührplatte für 22 Stunden gerührt. Anschließend wurde das Algenmaterial abzentrifugiert und der Überstand wurde hinsichtlich Polysaccharidgehalt und Emulgierfähigkeit untersucht. In Abbildung 5.5.1 wird zunächst der Polysaccharidgehalt (PS) der verschiedenen Extrakte dargestellt. Dabei werden die gravimetrisch gefundenen Polysaccharide einerseits auf die Einwaage an getrockneter Alge und andererseits auf die erhaltene Masse an Extrakt bezogen.

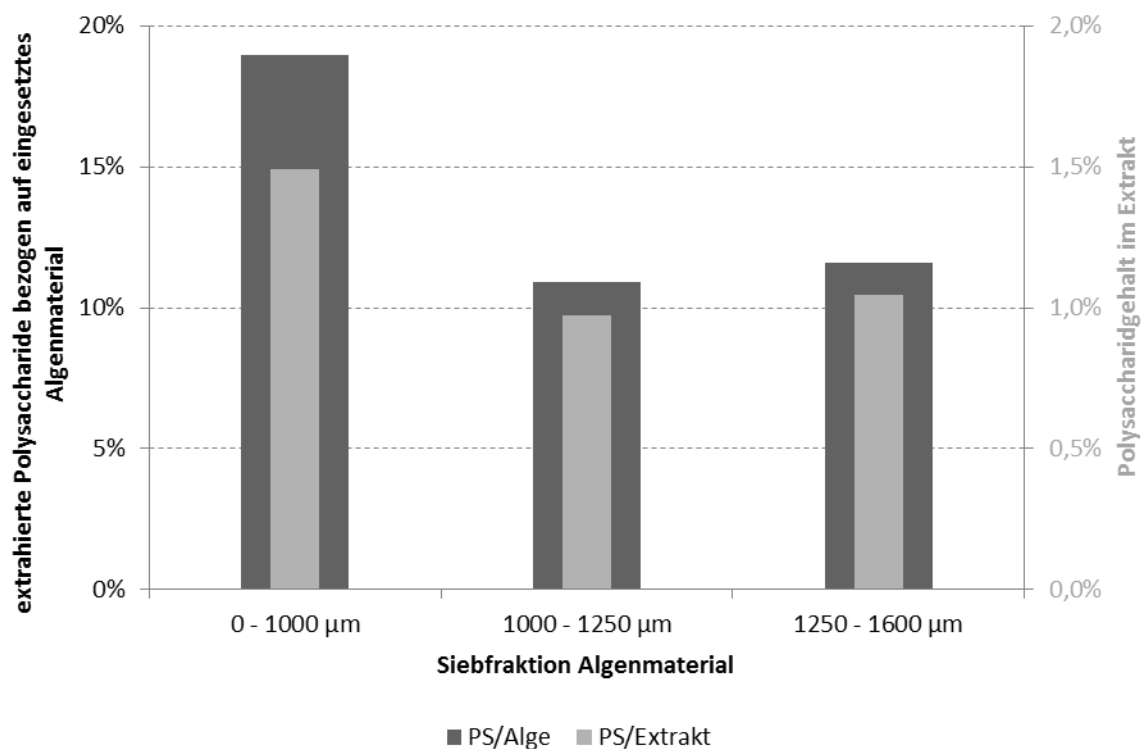


Abbildung 5.5.1: Vergleich des aus unterschiedlichen Siebfraktionen des Algenmaterials extrahierten Polysaccharidgehaltes ($n = 1$)

Es zeigte sich dabei wie erwartet, dass der Polysaccharidgehalt im Extrakt der Fraktion mit den kleinsten Partikeln mit 1,49% deutlich über dem der anderen beiden Fraktionen (0,97% bzw. 1,05%) liegt.

Betrachtet man nun die Tröpfchengrößen der wie oben beschrieben hergestellten Markeremulsionen, so zeigt sich, dass der Extrakt aus der kleinsten Siebfraction mit dem höchsten Polysaccharidgehalt dennoch zu Emulsionen mit größeren Tröpfchen führt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.5.2 dargestellt. Bei der Fraktion von 0 – 1000 μm war die Ausbeute so gering, dass nur drei Emulsionen hergestellt werden konnten. Die Ergebnisse dieser Fraktion sind daher nicht als Fläche sondern als Punkte dargestellt.

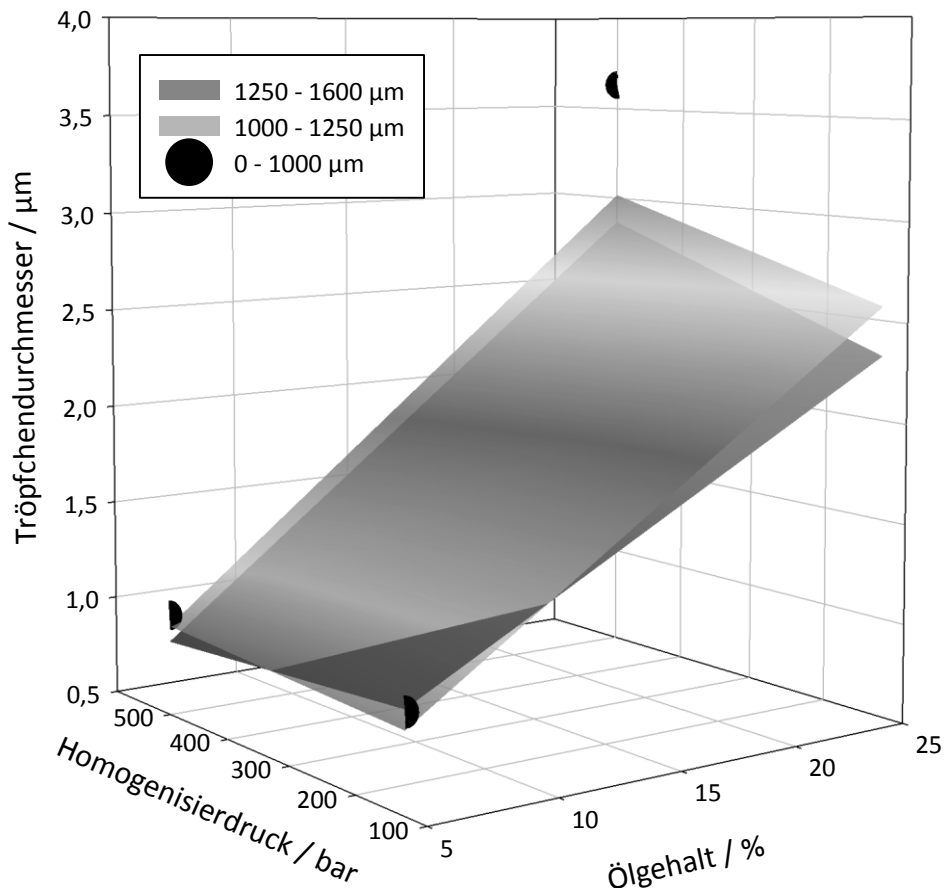


Abbildung 5.5.2: Vergleich der Markeremulsionen aus den unterschiedlichen Siebfractionen im Hinblick auf ihre Tröpfchengröße

Zunächst fällt auf, dass die Tröpfchen in den Emulsionen immer kleiner werden, je größer das verwendete Algenmaterial war. Dieser Unterschied tritt vor allem bei dem hohen Ölgehalt von 25% deutlich zutage. Bei nur 5% Öl ist kein deutlicher Trend zu erkennen. Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass das

Polysaccharidgemisch in dem gröberen Anteil besser zur Emulsionsstabilisierung geeignet ist als dasjenige in den feineren Bestandteilen. Es konnte allerdings durch die Fraktionierung keine deutliche Verbesserung im Vergleich zu dem von CRM hergestellten Extrakt erzielt werden.

Als nächstes soll daher untersucht werden, ob eine Zerkleinerung des Drogenmaterials im gequollenen Zustand zu einer erhöhten Ausbeute und einer Verbesserung des Extraktes in Bezug auf die Emulsionsstabilisierung führt.

5.5.2 Verwendung eines Rotor-Stator-Homogenisators

Das grobe Algenmaterial und heißes Wasser wurden eingewogen (1 Teil Alge + 10 Teile Wasser) und 15 Stunden auf einer Magnetrührplatte gerührt. Anschließend wurde ein Ultra-Turrax® T50 bei 7000 rpm für zwei Minuten zur Zerkleinerung des gequollenen Drogenmaterials genutzt und anschließend wurde weitere 6 Stunden auf einer Magnetrührplatte gerührt. Schließlich wurde das Algenmaterial abzentrifugiert und der Überstand wurde charakterisiert. Es konnte ein Polysaccharidgehalt von 1,38% erreicht werden, was weniger ist als für die Siebfraction von 0 – 1000 µm, jedoch etwas mehr als bei der Fraktion 1000 – 1250 µm. Ein Vergleich der vier Marker-Emulsionen mit denen der Siebfraction 1000 – 1250 µm zeigt jedoch, dass durch die Zerkleinerung keine deutlich verbesserten Emulgiereigenschaften erzielt werden konnten (Abbildung 5.5.3):

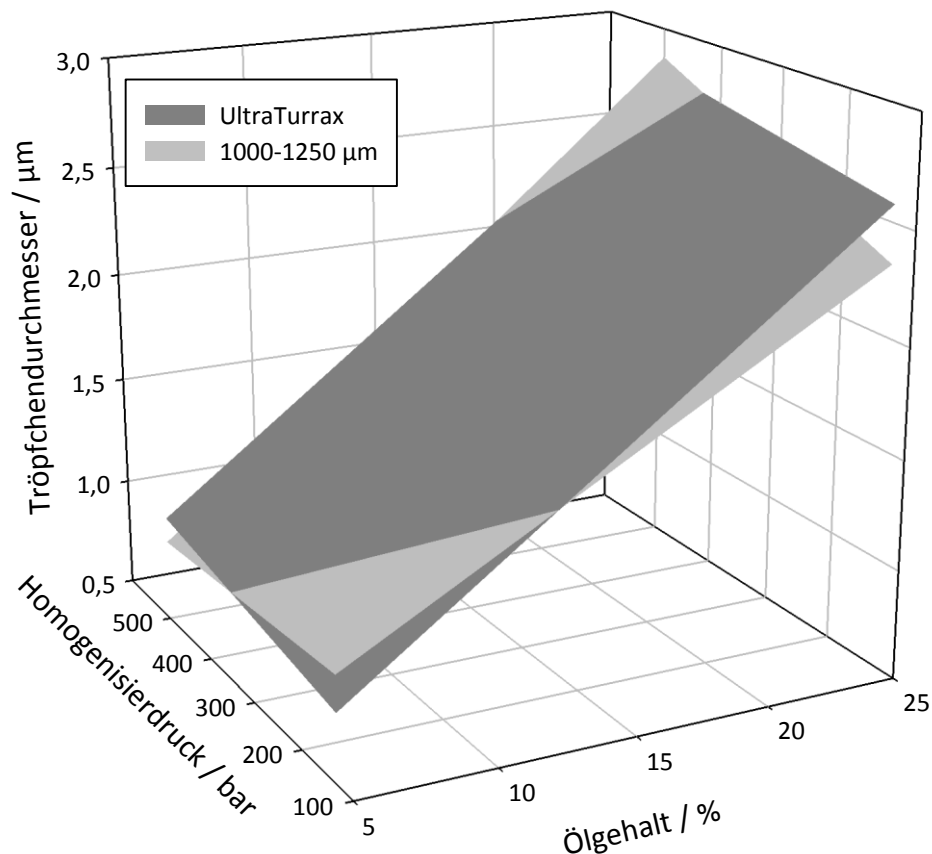


Abbildung 5.5.3: Vergleich der Markeremulsionen für zerkleinertes und gesiebtetes Drogenmaterial

Die Tröpfchengrößen sind durch die Verwendung des Ultra-Turrax® teilweise etwas größer als beim gesiebten Material, teilweise etwas kleiner, bewegen sich jedoch insgesamt in der gleichen Größenordnung. Eine entscheidende Verbesserung konnte auf diesem Wege also noch nicht erreicht werden.

5.5.3 Verwendung von fein gemahlenem Algenmaterial

Da neben der bisher verwendeten grob gemahlene Qualität auch fein gemahlene Algenmaterial im Handel erhältlich ist, wurde nun die Auswirkung der verwendeten Größe des Algenmaterials auf das Extraktionsergebnis untersucht. Der Vergleich zwischen diesen beiden erfolgte durch Extraktion mit Wasser im Verhältnis ein Teil Alge und zehn Teile Wasser. Die Droge und das Wasser wurden in einem Weithalsglas mit Hilfe eines Magnetrührers für 18 Stunden gerührt. Dabei wurde jede Algenqualität einmal mit heißem Wasser und einmal mit Wasser auf

Raumtemperatur versetzt. Dann wurde die grobe Droge jeweils mit einem Ultra-Turrax® zerkleinert (2 min; 8000 rpm) und alle Ansätze wurden weitere 4 Stunden gerührt. Anschließend erfolgte die Abtrennung des Extraktes durch Zentrifugieren (15 min, 20°C; 7830 rpm). Auch mit diesen vier Extrakten wurden die vier Emulsionen zur Beurteilung der Emulgierkapazität hergestellt. Der Vergleich der erhaltenen Tröpfchengrößen ist in Abbildung 5.5.4 dargestellt.

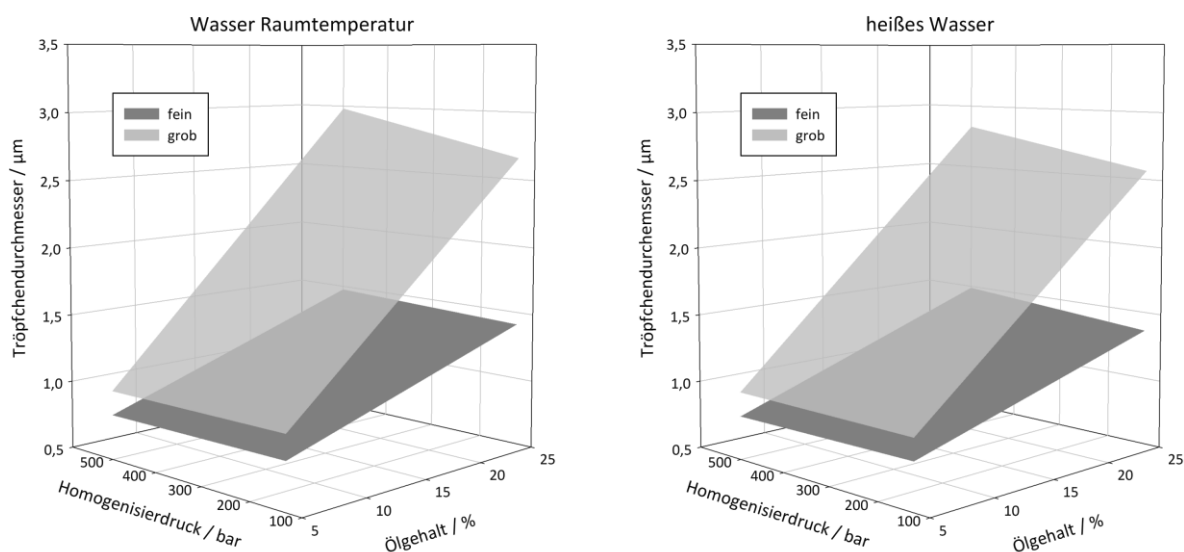


Abbildung 5.5.4: Tröpfchengröße der Markeremulsionen bei Verwendung von feinem und grobem Algenmaterial mit Wasser unterschiedlicher Temperaturen

Zunächst ist auffällig, dass die Emulsionen aus dem feinen Algenmaterial durchgehend kleinere Tröpfchen aufweisen (maximal 1,5 µm) als diejenigen aus dem groben Algenmaterial (bis zu 3 µm). Auch der Anstieg in der Tröpfchengröße bei Erhöhung des Ölgehaltes resultiert bei dem feinen Algenmaterial nur in einem Wachstum von < 1 µm, während die Tröpfchen aus dem groben Material fast um 2 µm größer werden. Der Einfluss des Homogenisierdruckes ist bei niedrigem Ölgehalt kaum zu beobachten, bei hohem Ölgehalt führt jedoch für beide Ausgangsmaterialien eine Erhöhung des Homogenisierdruckes zu größeren Tröpfchen. Aus diesen Beobachtungen kann also schon die Schlussfolgerung gezogen werden, dass das feine Algenmaterial sich deutlich besser zur Extraktion von emulgierenden Substanzen eignet als das grobe Material.

Zusätzlich wurde der Polysaccharidgehalt in den jeweiligen Extrakten gravimetrisch bestimmt. Die Ergebnisse dieser Messungen und auch die Tröpfchengröße der Markeremulsion mit den jeweils kleinsten Tröpfchen sind in Abbildung 5.5.5 dargestellt.

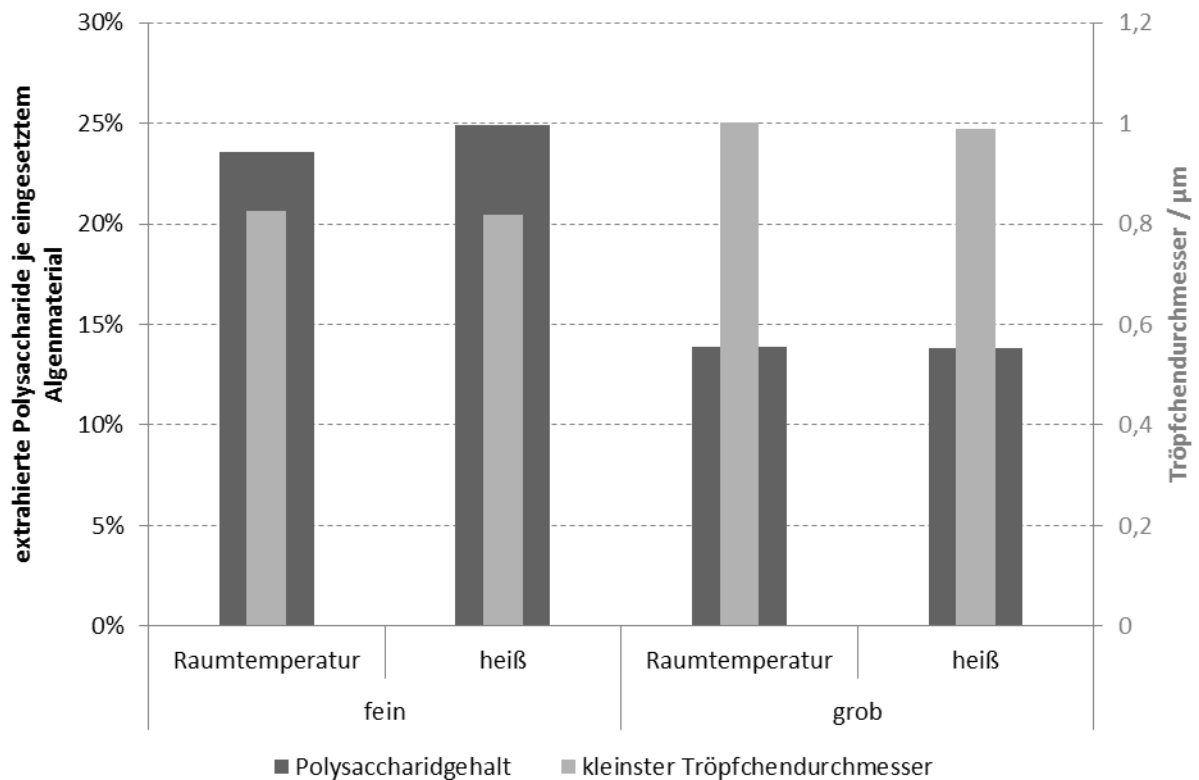


Abbildung 5.5.5: Vergleich von grobem und feinem Algenmaterial und der Extraktion mit heißem und auf Raumtemperatur abgekühltem Wasser ($n = 1$)

Auch hier ist deutlich zu sehen, dass ein Unterschied in der erzielten Tröpfchengröße besteht: die Tröpfchengröße der Emulsionen, die mit dem Extrakt aus dem feinen Material hergestellt wurden ist ca. 0,2 µm kleiner als die vergleichbare Tröpfchengröße in den Emulsionen aus grobem Algenmaterial. Dass der Unterschied bei höherem Ölanteil deutlich stärker ausgeprägt ist, wurde bereits beschreiben. Eine Erklärung hierfür ist, dass in Bezug auf das eingesetzte Algenmaterial deutlich mehr Polysaccharide aus der feinen Droge mit 24% bzw. 25% extrahiert werden konnten als aus der groben Droge. Hier wurden nur 14% extrahiert.

Die vier Markeremulsionen, die mit dem Extrakt aus feinem Algenmaterial und heißem Wasser hergestellt wurden, wurden zusätzlich mit Hilfe der Lichtstreuung hinsichtlich ihrer Langzeitstabilität untersucht. Dabei wurden Messungen über einen Zeitraum von 250 Tagen durchgeführt.

Die Emulsionen wurden während dieser Zeit unkonditioniert im Labor gelagert um Erschütterungen oder sonstige Beeinflussungen durch Transport zu vermeiden. Nach 250 Tagen wurde – wie in Kapitel 4.5.1 beschrieben – der Turbiscan Stabilitätsindex ermittelt. In Abbildung 5.5.6 wird dieser gegen den Homogenisierdruck und den Ölgehalt der jeweiligen Emulsion dargestellt.

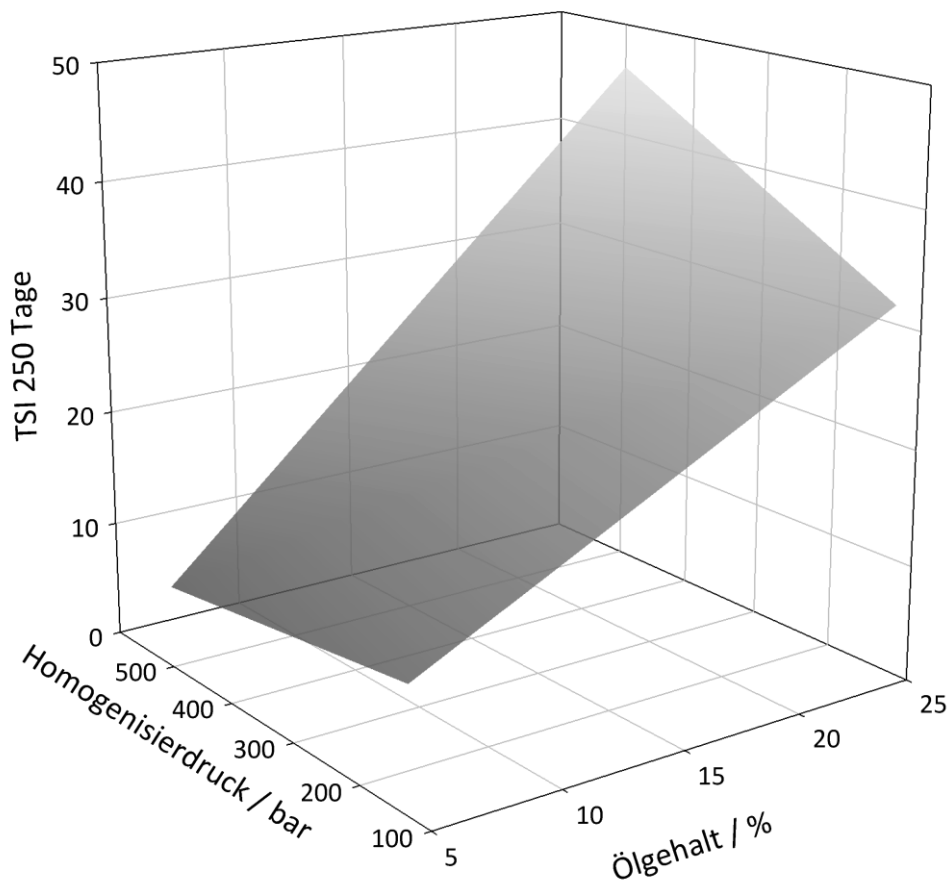


Abbildung 5.5.6: Stabilität der Markeremulsionen aus feiner Droge mit heißem Wasser nach 250 Tagen

Auch hier zeigt sich eine Beobachtung, die schon in Kapitel 5.4 beschrieben wurde: Bei einem niedrigen Ölgehalt war ein niedriger Homogenisierdruck besser für die Stabilität der Emulsionen. Bei hohem Ölgehalt senkt ein höherer

Homogenisierdruck jedoch die Emulsionsstabilität. Eine Erhöhung des Ölgehaltes führt unabhängig vom eingesetzten Druck zu einer Verringerung der Stabilität. Die höchste Stabilität zeigte also die Emulsion, die mit 5% Öl bei 130 bar aus feinem Algenmaterial hergestellt wurde. Nach der Lagerung war mit dem bloßen Auge nur wenig Aufrahmen zu sehen. Leichtes Schütteln führte weiterhin zu einer vollständigen Redispergierung.

Es konnte also gezeigt werden, dass die Verwendung des feinen Materials deutliche Vorteile gegenüber der Verwendung des groben Algenmaterials mit sich bringt. Nun sollte weiterhin untersucht werden, welches Verhältnis zwischen Algenmaterial und Extraktionsmittel zu einer möglichst hohen Ausbeute führt, ohne die Abtrennung von Extrakt und Droge zu stark zu erschweren. Die Temperatur des verwendeten Wassers hingegen hat keinen wesentlichen Einfluss auf die Emulgierfähigkeit des Extraktes.

5.5.4 Ermittlung des Verhältnisses zwischen Algenmaterial und Extraktionsmittel

Da sich, wie in Abschnitt 5.5.3 beschrieben, das feine Algenmaterial in Kombination mit dem Rühren auf einer Magnetrührplatte als geeignet erwiesen hat, sollte im nächsten Schritt untersucht werden, welches Verhältnis zwischen Alge und Wasser gewählt werden sollte, um eine möglichst hohe Polysaccharidkonzentration im Extrakt bei erschöpfender Extraktion der Alge zu erreichen. Untersucht wurde der Zusatz von 5 Teilen, 10 Teilen und 20 Teilen Wasser (Raumtemperatur) zu jeweils einem Teil Alge. Der extrahierte Polysaccharidgehalt wurde gravimetrisch bestimmt und auch hier einerseits ausgedrückt als Polysaccharidgehalt im Extrakt und andererseits auch bezogen auf die eingesetzte Algenmasse. Es handelt sich hierbei um Dreifachbestimmungen. Die so hergestellten Extrakte zeigten einen Polysaccharidgehalt von 1,2% bis 3,8%, dargestellt in Abbildung 5.5.7. Interessant ist, dass die Masse der Polysaccharide,

die in Bezug auf das Algenmaterial extrahiert werden konnten, sich nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander unterscheiden, daher kann davon ausgegangen werden, dass auch bei niedrigem Wasseranteil noch eine annähernd quantitative Extraktion erfolgt. Der Polysaccharidgehalt im Extrakt steigt jedoch mit sinkendem Wassergehalt signifikant ($p < 0,05$) an.

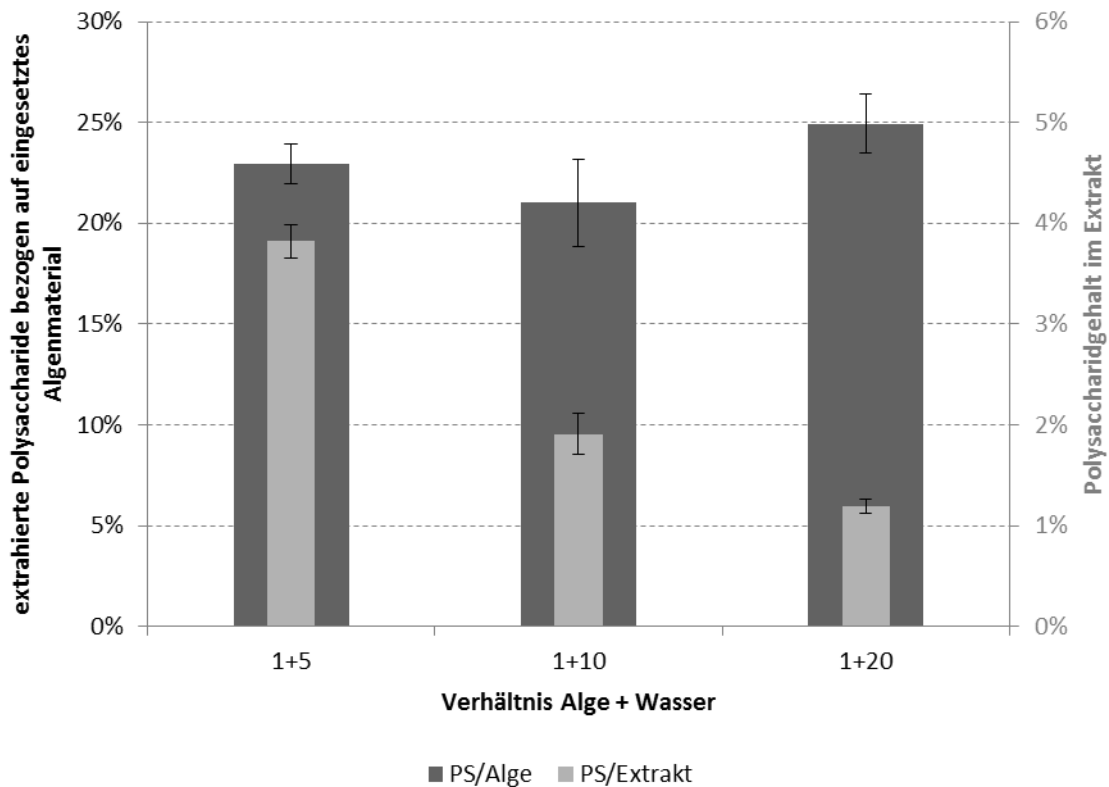


Abbildung 5.5.7: Polysaccharidgehalt in Abhängigkeit vom Verhältnis zwischen Extraktionsmittel und Alge ($n = 3$; Fehlerbalken = Standardabweichung)

Zur Überprüfung der Emulgierkapazität wurden auch hier die bereits bekannten Markeremulsionen hergestellt. Die Tröpfchengröße der unterschiedlichen Emulsionen ist in Abbildung 5.5.8 dargestellt. Sie ist im Vergleich zu vorherigen Untersuchungen für alle Verhältnisse deutlich verbessert, mit einer maximalen Größe von knapp $1,6 \mu\text{m}$. Es ist deutlich zu erkennen, dass die erzielten Tröpfchen umso größer werden, je mehr Wasser zur Extraktion verwendet wurde, je geringer also auch die Polysaccharidkonzentration im hergestellten Extrakt ist. Daher scheint ein geringer Wasserzusatz von Vorteil zu sein. Weiterhin ist der Einfluss des Druckes bei allen untersuchten Verhältnissen wenig ausgeprägt, bei niedrigem

Ölgehalt und einem Verhältnis von einem Teil Alge mit fünf Teilen Wasser führt eine Erhöhung des Druckes sogar zu einer Verringerung der Tröpfchengröße.

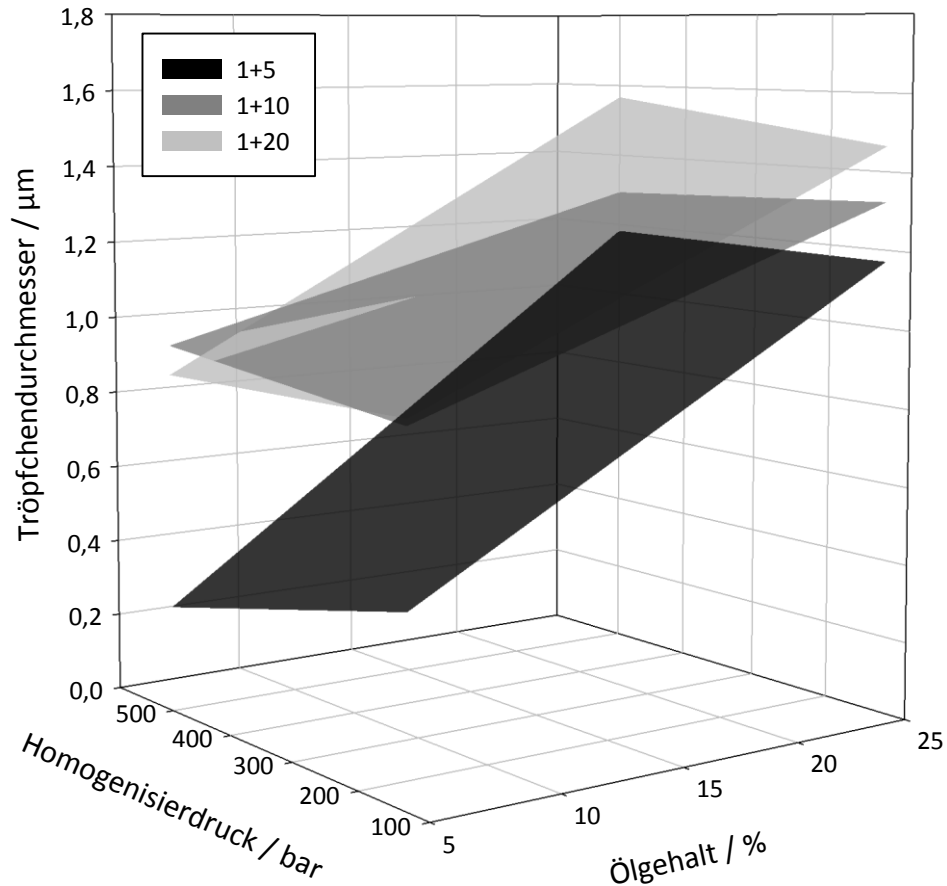


Abbildung 5.5.8: Markeremulsionen aus den Extrakten, die mit einem unterschiedlichen Verhältnis zwischen Droge und Extraktionsmittel hergestellt wurden

Da sowohl der hohe Polysaccharidgehalt im Extrakt als auch die hergestellten Emulsionen für die Verwendung eines Extraktes mit dem Verhältnis aus einem Teil Alge mit fünf Teilen Wasser sprechen, wurde dies für die weiteren Extraktionen beibehalten. Der Unterschied zwischen Emulsionen mit hohem und niedrigem Ölgehalt ist zwar vergleichsweise stärker ausgeprägt als bei Verwendung von mehr Wasser im Verhältnis zur Alge, dies wurde aber nicht als ausschlaggebend bewertet. Eine weitere Verringerung des Wassergehaltes wurde nicht in Betracht gezogen, da die Viskosität des Ansatzes schon bei diesem Verhältnis sehr hoch war und erwartet werden konnte, dass sowohl das Rühren während der Extraktion als

auch die Abtrennung des feinen Algenmaterials in noch höherer Konzentration nicht praktikabel gewesen wären.

5.5.5 Extraktionsdauer

Nachdem nun mit dem feinen Algenmaterial die Ausgangsqualität festgelegt war und auch das Verhältnis zwischen Alge und Wasser bei Raumtemperatur auf 1 + 5 optimiert werden konnte, sollte ermittelt werden, wie die Extraktionsdauer sinnvoll zu wählen war. Da in mehreren Gefäßen gleichzeitig extrahiert wurde, wurden Sechsfachbestimmungen durchgeführt und Mittelwert und Standardabweichung berechnet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.5.9 dargestellt.

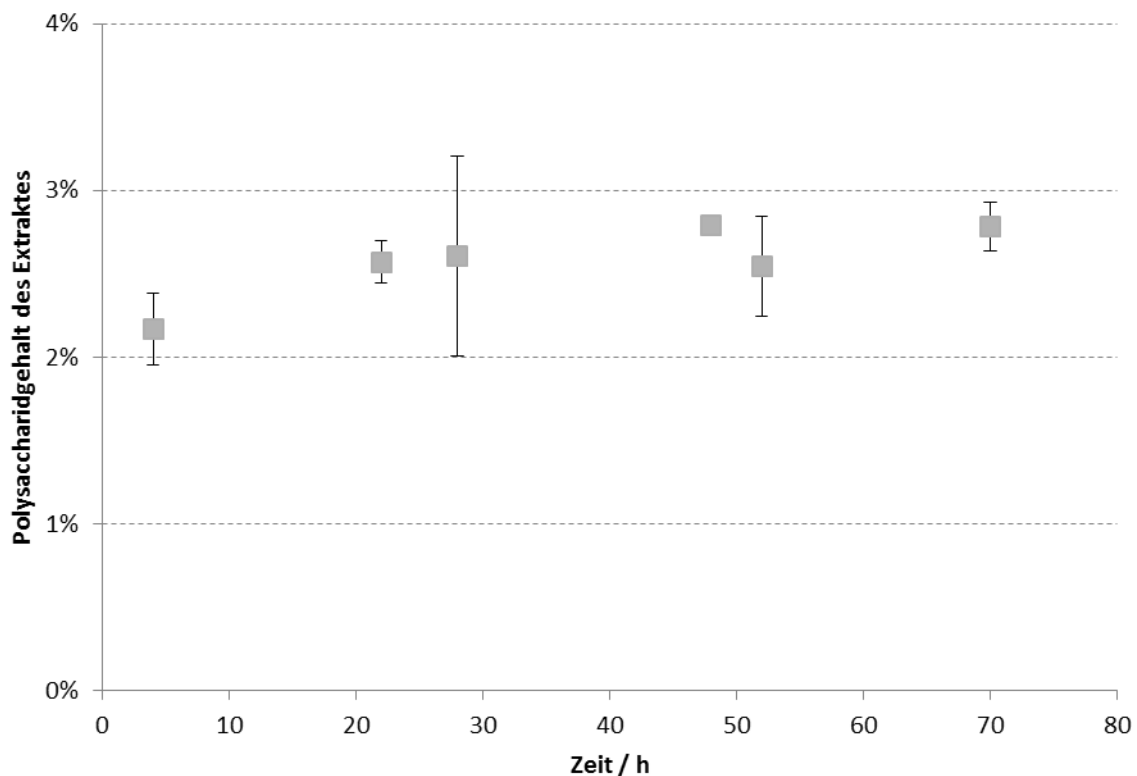


Abbildung 5.5.9: Polysaccharidgehalt im zeitlichen Verlauf ($n = 6$; Fehlerbalken = Standardabweichung)

Die hohen Standardabweichungen lassen sich vermutlich dadurch erklären, dass der Polysaccharidgehalt über unterschiedliche Gefäße gemittelt werden musste. Dabei sind große Unterschiede zwischen den einzelnen Gefäßen nicht verwunderlich. Da die Ergebnisse dementsprechend nicht als aussagekräftig zu bezeichnen sind, wurde entschieden, die folgenden Extrakte sicherheitshalber

über mindestens 72 Stunden zu rühren. Es konnte aufgrund der hier erhobenen Daten zumindest nicht ausgeschlossen werden, dass der Polysaccharidgehalt im Extrakt über diesen Zeitraum ansteigt.

5.6 Optimierung von Prozess und Zusammensetzung

Der Prozess zur Herstellung der Emulsionen aus dem nun definiert hergestellten Extrakt gliedert sich in die Einwaage der Substanzen, die Vorhomogenisierung mittels Rotor-Stator-System und die eigentliche Hochdruckhomogenisierung. Dieser gesamte Prozess wird nun mit Hilfe der statistischen Versuchsplanung beschrieben und optimiert. In den folgenden Abschnitten wird auf eine detaillierte Darstellung der Varianzanalysen verzichtet, diese sind stattdessen im Anhang (Abschnitt 8.1) aufgeführt.

5.6.1 Vorhomogenisierung

Da zur Vorhomogenisierung mit einem Ultra-Turrax® gearbeitet wird, dessen Geschwindigkeit sich nicht stufenlos regeln lässt, war hier die Anwendung eines D-Optimalen Designs notwendig, da nur dieses die Möglichkeit bietet, die Stufen für bestimmte Faktoren in unsymmetrischen Abständen festzulegen. Es konnte erwartet werden, dass die letztlich erzielte Tröpfchengröße kleiner wird, je mehr Energie in das System eingebracht wird. Da schon durch die Vorhomogenisierung Energie eingebracht wurde, war zu erwarten, dass die resultierende Tröpfchengröße sank, je schneller und länger die Vorhomogenisierung erfolgte.

Um diesen Einfluss zu untersuchen wurde ein statistischer Versuchsplan ausgearbeitet, der nur die beiden Faktoren Dauer und Geschwindigkeit in der Anwendung des Ultra-Turrax® zur Herstellung der Rohemulsionen beinhaltete. Nach der entsprechenden Vorhomogenisierung wurde jeweils die Tröpfchengröße der Rohemulsion direkt im Turbiscan™ ermittelt. Anschließend wurde die Hochdruckhomogenisierung bei 300 bar über 4 Zyklen durchgeführt und direkt im Anschluss wurde erneut die mittlere Tröpfchengröße jeder Emulsion wie oben beschrieben vermessen. Dabei wurde der Ölgehalt der Emulsionen konstant bei

15% gehalten, da zu erwarten ist, dass die Richtung eines zu beobachtenden Trends sich nicht durch eine andere Zusammensetzung verschiebt, lediglich die Stärke der Ausprägung ist nicht übertragbar.

Die Parameter wurden über einen Bereich von 8000 bis 24000 Umdrehungen pro Minute und einen Zeitraum von 30 Sekunden bis fünf Minuten untersucht. Insgesamt wurden 16 Messungen durchgeführt, aufgeteilt auf neun Faktorkombinationen und sieben Wiederholungen. Die entsprechenden Faktorkombinationen sind in Abbildung 5.6.1 dargestellt.

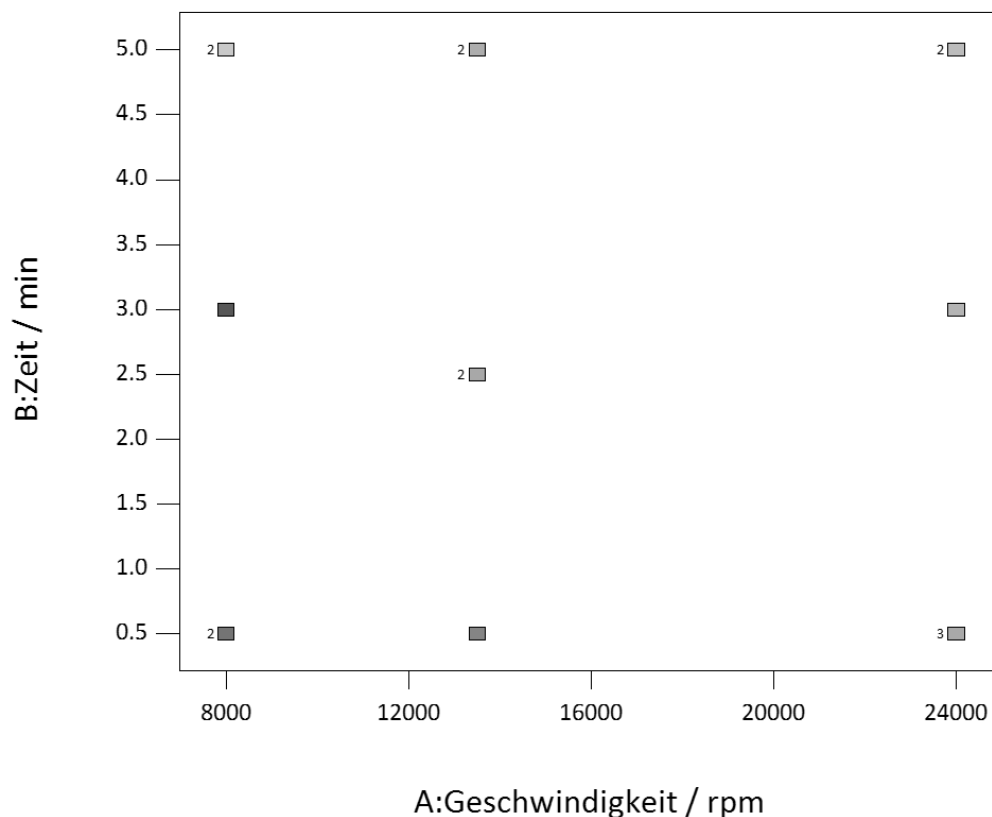


Abbildung 5.6.1: Faktorkombinationen des statistischen Versuchsplanes zur Untersuchung der Vorhomogenisierung

Da ein Optimum eher am Rand des Modelles im Bereich der hohen Geschwindigkeit und langer Zeit erwartet wurde, war darauf zu achten, dass der Fehler des Modelles gleichmäßig auf alle Gebiete verteilt war. Die Verteilung des Standard-Designfehlers aufgrund der gewählten Modellpunkte ist in Abbildung 5.6.2 dargestellt.

Design-Expert® Software
 Factor Coding: Actual
 Std Error of Design

X1 = A: Geschwindigkeit / rpm
 X2 = B: Zeit / min

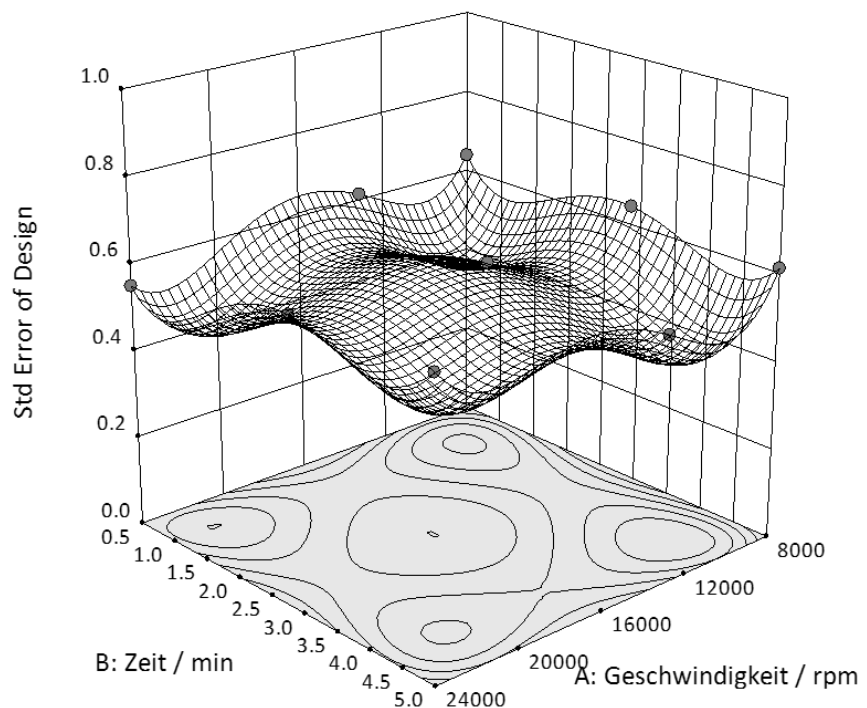


Abbildung 5.6.2: Verteilung des Standard Error of Design über die gewählten Designpunkte

Insgesamt ist der Fehler dieses Designs mit ca. 0,6 als niedrig zu beurteilen. Die Verteilung des Fehlers ist wie gewünscht sehr gleichmäßig, ohne dass ausgeprägte Maxima berücksichtigt werden müssten.

Wie bereits erwähnt, wurden mit diesem Versuchsplan zwei verschiedene Zielgrößen untersucht. Die erste war der Tröpfchendurchmesser der Emulsionen nach der Vorhomogenisierung und vor der eigentlichen Hochdruckhomogenisierung. Die Bestimmung erfolgte wie unter 4.5.2 beschrieben aus der

Rückstreuung auf einer Höhe von 20 mm. Design Expert® schlägt eine Transformation der gewonnenen Daten durch Ziehen der Quadratwurzel vor, dies bewirkt eine bessere Annäherung der Residuen an die Normalverteilung, wie Abbildung 5.6.3 zu entnehmen ist.

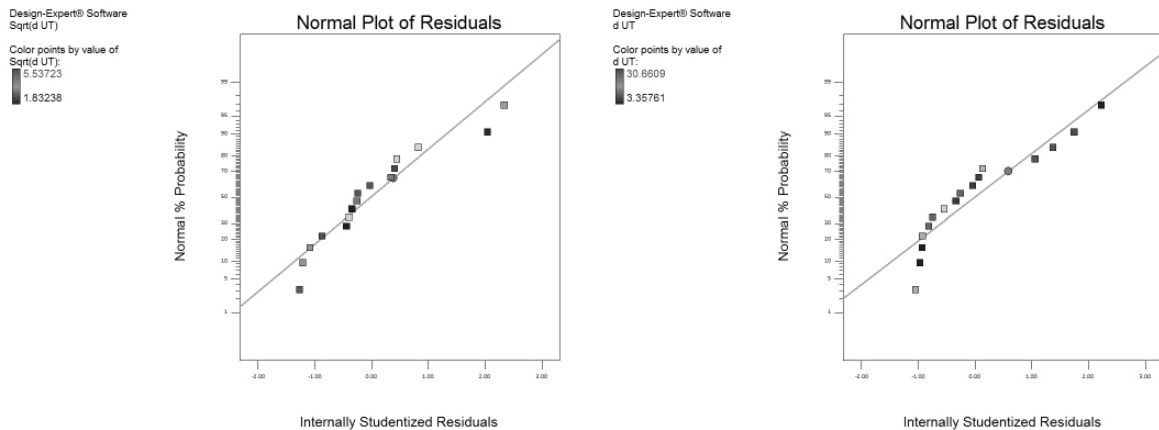


Abbildung 5.6.3: Verteilung der Residuen im Wahrscheinlichkeitsnetz: durch Ziehen der Quadratwurzel transformierte Daten (links) und untransformierte Daten (rechts)

Diese Transformation wurde für die weiteren Berechnungen verwendet. Es wurde eine Varianzanalyse durchgeführt, deren genaue Ergebnisse Tabelle 8.1.1 zu entnehmen sind. Dabei wurde ein quadratisches Modell zugrunde gelegt. Es konnte sowohl ein signifikanter Einfluss der Zeit als auch ein signifikanter Einfluss der Geschwindigkeit ermittelt werden. Zusätzlich ist auch die Wechselwirkung dieser beiden Faktoren und zumindest das Quadrat der Geschwindigkeit als signifikant für die Tröpfchengröße nach der Vorhomogenisierung anzusehen (jeweils $p < 0,0001$). Auch das Quadrat der Zeit hat mit $p = 0,0006$ wahrscheinlich einen signifikanten Einfluss. Das Modell insgesamt ist mit $p < 0,0001$ als signifikant zu bezeichnen, alle untersuchten Faktoren beeinflussen die Tröpfchengröße. Zwar ist auch der Lack of Fit als signifikant berechnet ($p = 0,004$), jedoch kann dies dadurch erklärt werden, dass die Reproduzierbarkeit der Messungen so hoch ist, dass schon sehr geringe Abweichungen im Modell als signifikant bewertet werden [38]. Weiterhin ist die Signifikanzgrenze durch das Programm mit 0,01% sehr niedrig gewählt.

Sowohl R^2 (0,9979), als auch adjusted R^2 (0,9969) und predicted R^2 (0,9944) sind für diese Modell annähernd 1. Das bedeutet zum Einen, dass das Modell die Daten sehr gut beschreibt (R^2), auch unter Einbeziehung der Parameteranzahl (adjusted R^2). Auch die Vorhersage neuer Daten durch das Modell ist als sehr gut einzuschätzen (predicted R^2), was vor allem daran zu erkennen ist, dass adjusted und predicted R^2 sehr nah beieinander liegen.

Die grafische Darstellung der durch das Modell geschätzten gegen die tatsächlich gemessenen Werte in Abbildung 5.6.4 veranschaulicht diese gute Übereinstimmung innerhalb der entsprechenden Wertepaare.

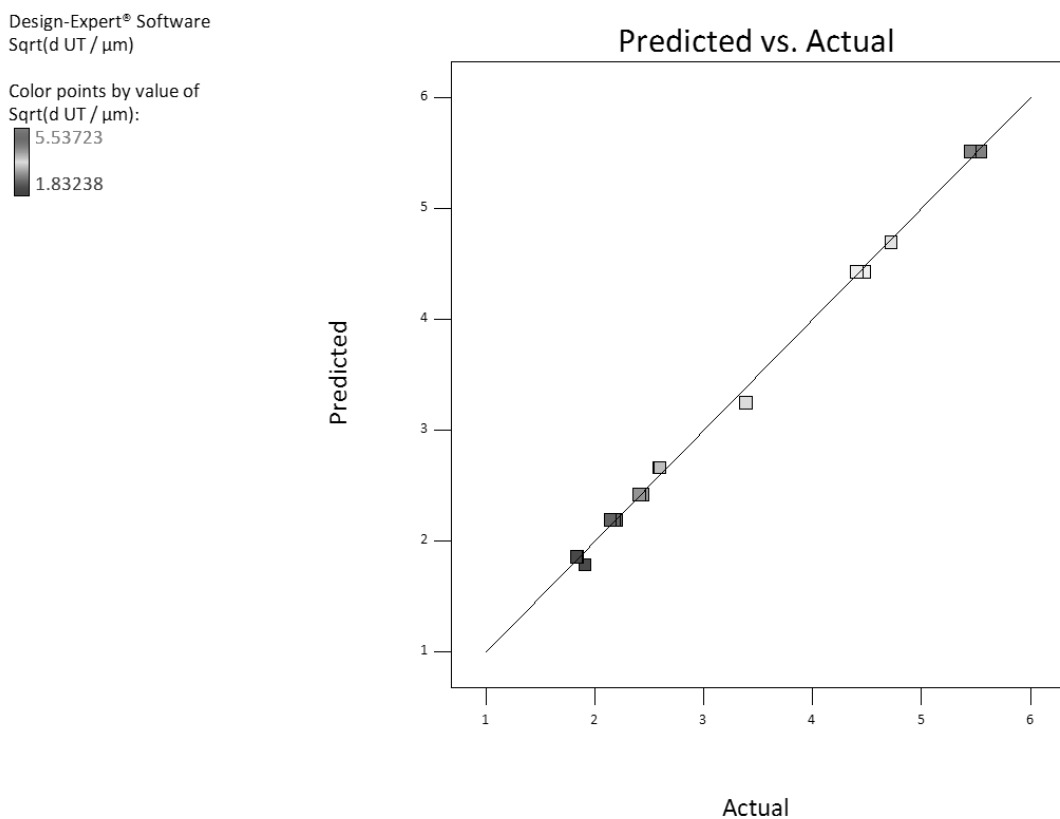


Abbildung 5.6.4: Darstellung der geschätzten und gemessenen Werte für die Tröpfchengröße nach der Vorhomogenisierung

Betrachtet man die F-Werte in Tabelle 8.1.1 für den Einfluss von Geschwindigkeit und Zeit auf die erzielte Tröpfchengröße, so ist zu bemerken, dass der F-Wert der Geschwindigkeit mit 4284,38 deutlich über dem der Zeit mit 273,60 liegt. Der F-Wert gibt an, wie stark der durch einen Faktor ausgelöste Effekt im Vergleich zu beobachteten zufälligen Schwankungen ausgeprägt ist. Aus den hier aufgeführten

Werten kann daher die Schlussfolgerung gezogen werden, dass sowohl Geschwindigkeit als auch Zeit einen signifikanten Einfluss auf die erzielte Tröpfchengröße haben, aber der Effekt der Zeit deutlich geringer ausgeprägt ist. Diese Aussage bestätigt sich bei der grafischen Darstellung der Ergebnisse, die in Abbildung 5.6.5 zu sehen ist.

Design-Expert® Software

Factor Coding: Actual

Original Scale

d UT / μm

◆ Design points above predicted value

○ Design points below predicted value

X1 = A: Geschwindigkeit / rpm

X2 = B: Zeit / min

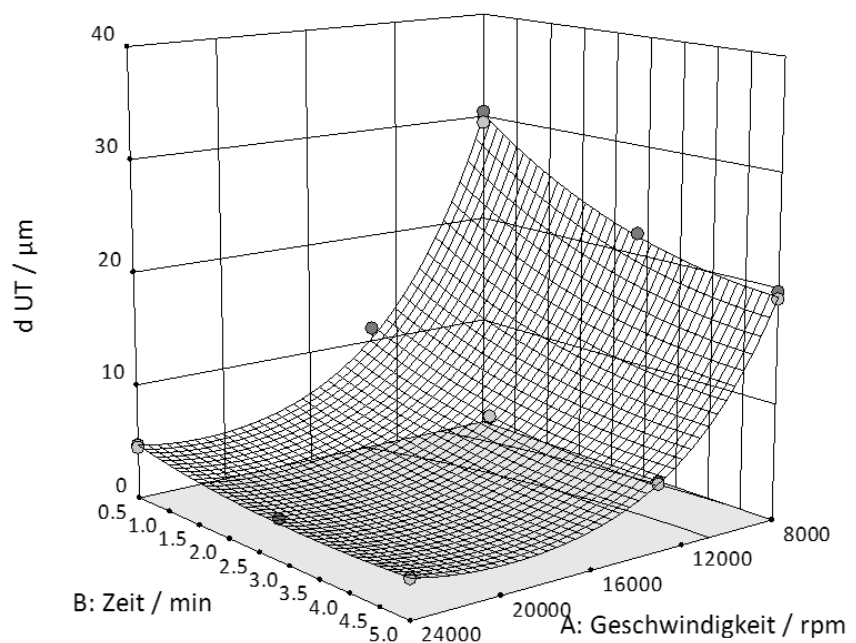


Abbildung 5.6.5: Abhängigkeit der Tröpfchengröße nach der Vorhomogenisierung von Geschwindigkeit und Dauer der Vorhomogenisierung

Um kleinere Tröpfchengrößen in der Rohemulsion zu erzielen, ist es also sinnvoll, die höchstmögliche Geschwindigkeit zu wählen. Außerdem führt zwar die Homogenisierung über einen verlängerten Zeitraum zu einer Verringerung der Tröpfchengröße, hat aber keinen so stark ausgeprägten Effekt wie eine Erhöhung der Geschwindigkeit. Die leichte Wechselwirkung der beiden Faktoren (Faktor AB in der ANOVA) ist beispielsweise daran zu erkennen, dass eine Verlängerung der Zeit bei einer niedrigen Geschwindigkeit die Tröpfchengrößen stärker beeinflusst, als bei einer hohen Geschwindigkeit.

Als nächster Schritt erfolgt die Hochdruckhomogenisierung der Rohemulsionen mit den oben beschriebenen Parametern. Im Anschluss wurde erneut die Tröpfchengröße der Emulsionen vermessen. Die entsprechende Varianzanalyse ist in Tabelle 8.1.2 aufgeführt. Alleine der p-Wert des Modelles von 0,5905 zeigt sehr deutlich, dass hier kein signifikanter Einfluss vorliegt. Die Variabilität zwischen den Messwerten war niemals signifikant größer als die Variabilität zwischen Wiederholungen des gleichen Messpunktes. Die Werte für R^2 (0,2787), adjusted R^2 (-0,0819) und predicted R^2 (-0,6787) veranschaulichen ebenfalls sehr deutlich, dass weder die Geschwindigkeit noch die Dauer der Vorhomogenisierung bei den hier betrachteten Parametern die Tröpfchengröße der fertigen Emulsionen signifikant beeinflussen.

Dies ist ebenfalls der Gegenüberstellung von gemessenen und berechneten Werten in Abbildung 5.6.6 zu entnehmen:

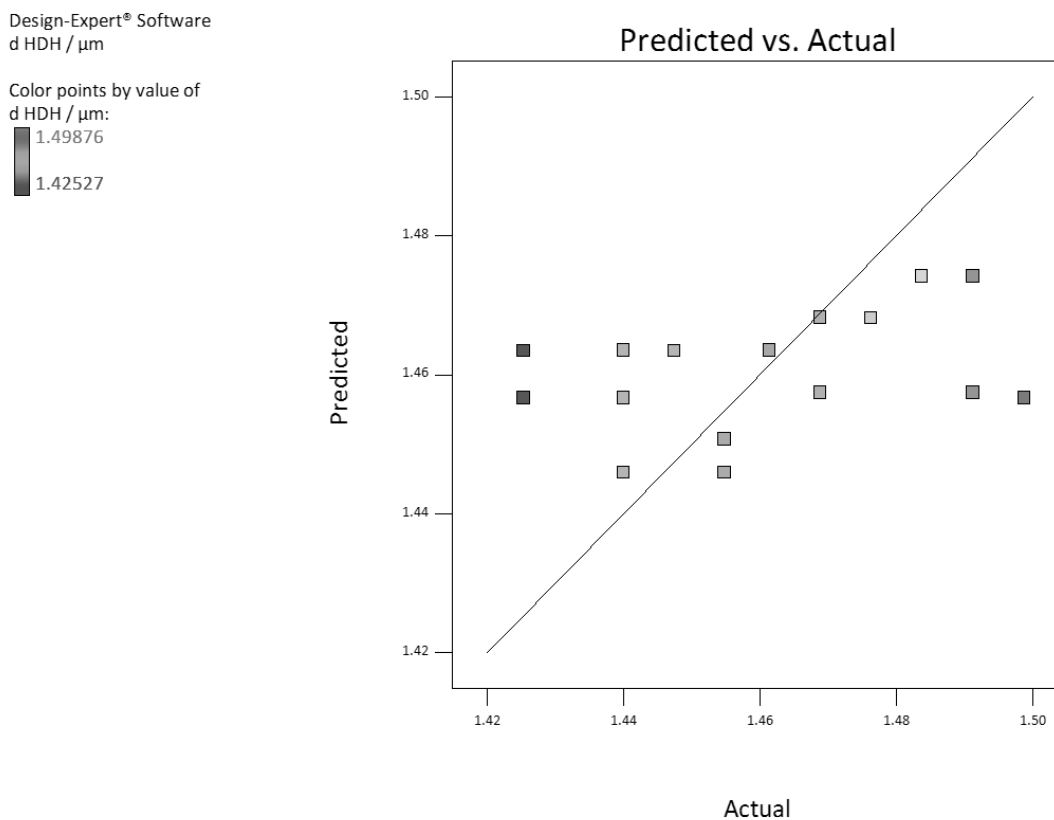


Abbildung 5.6.6: Darstellung der vorhergesagten und tatsächlichen Werte für die Tröpfchengröße nach der Hochdruckhomogenisierung

Es ist deutlich zu erkennen, dass kein Zusammenhang zwischen den Messwerten und den durch das Modell vorhergesagten Werten besteht. Dennoch wird der Vollständigkeit halber in Abbildung 5.6.7 das nicht signifikante Modell gezeigt:

Design-Expert® Software

Factor Coding: Actual

d HDH / μm

● Design points above predicted value

○ Design points below predicted value

X1 = A: Geschwindigkeit / rpm

X2 = B: Zeit / min

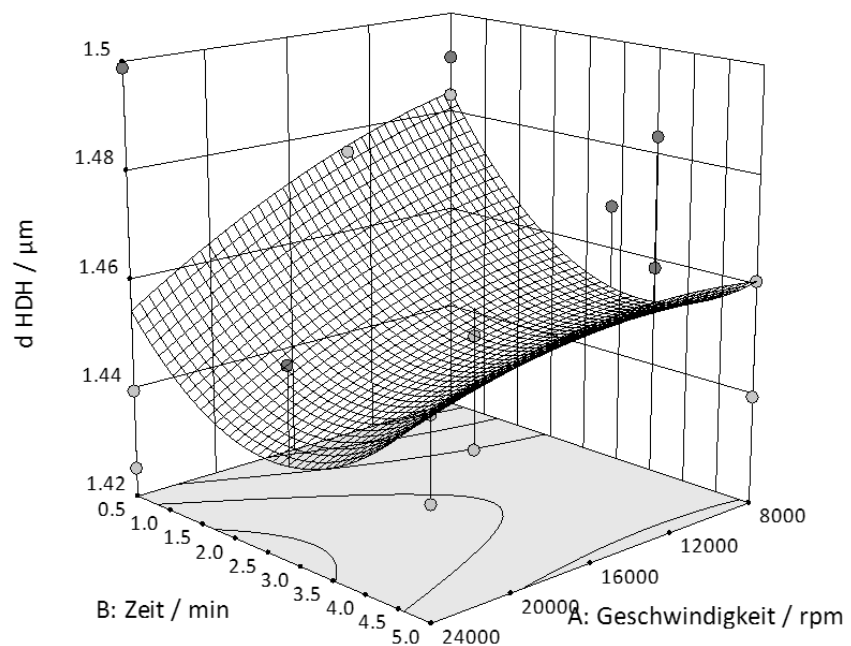


Abbildung 5.6.7: Tröpfchengröße der Emulsionen nach der Hochdruckhomogenisierung in Abhängigkeit von den Parametern der Vorhomogenisierung (nicht signifikantes Modell)

Unabhängig von den verwendeten Parametern der Vorhomogenisierung haben die fertigen Emulsionen einen Tröpfchendurchmesser zwischen 1,4 μm und 1,5 μm .

Es kann also die Schlussfolgerung gezogen werden, dass zumindest im beobachteten Versuchsraum (15% mittelkettige Triglyceride, 300 bar, 4 Zyklen) die Geschwindigkeit und Dauer der Vorhomogenisierung keinen Einfluss auf die letztlich erzielte Tröpfchengröße hat.

Um diese Beobachtung auch bei anderen Drücken im Hochdruckhomogenisator zu bestätigen, wurden die extremen Bedingungen der Vorhomogenisierung (5 min bei

24000 rpm und 30 Sekunden bei 8000 rpm) jeweils bei 130 bar, 500 bar und 1000 bar in zweifacher Ausführung hergestellt vermessen.

Dabei ergaben sich die in Abbildung 5.6.8 dargestellten Unterschiede.

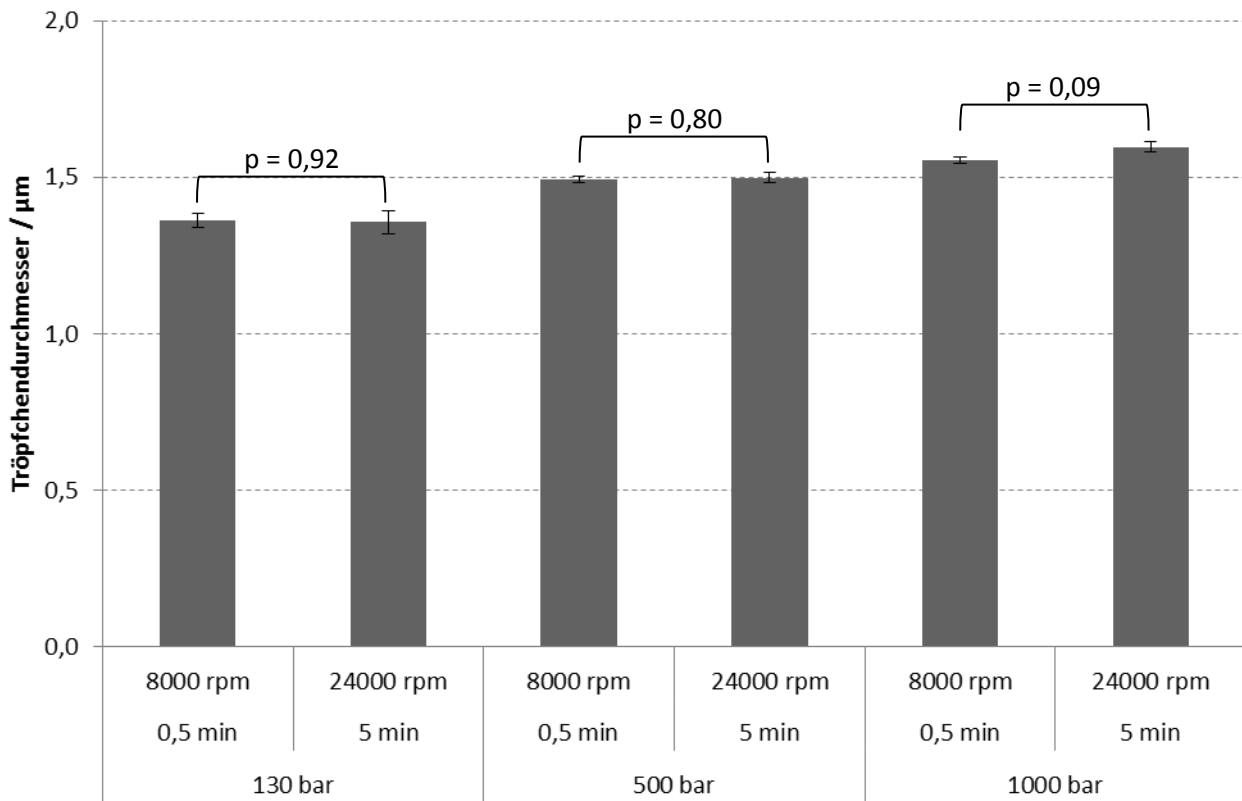


Abbildung 5.6.8: Extrembedingungen der Vorhomogenisierung über den gesamten Druckbereich des Hochdruckhomogenisators ($n = 2$; Fehlerbalken = Standardabweichung)

Vergleicht man jeweils die Extrema der Vorhomogenisierung innerhalb des gleichen Homogenisierdruckes, so bestätigt sich das Ergebnis aus dem statistischen Versuchsplan auch für einen größeren Druckbereich: mit $p > 0,05$ gilt für jeden der betrachteten Homogenisierdrücke, dass Dauer und Geschwindigkeit der Vorhomogenisierung die nach der Hochdruckhomogenisierung resultierende Tröpfchengröße nicht beeinflussen. Eine Übertragung auf einen anderen Ölgehalt erfolgt in diesem Zusammenhang nicht. Dennoch sollte nicht auf eine standardisierte Vorhomogenisierung verzichtet werden, um insgesamt die Reproduzierbarkeit in der Herstellung der Emulsionen zu gewährleisten. Die Wahl

der Parameter dieser Vorhomogenisierung ist allerdings von untergeordnetem Interesse.

Bemerkenswert ist zusätzlich, dass der Homogenisierdruck (wie auch schon in den Voruntersuchungen mit dem Extrakt von CRM gezeigt wurde) die Tröpfchengröße signifikant ($p < 0,05$) beeinflusst und zwar auch hier in der Art, dass ein höherer Druck zu größeren Tröpfchen führt.

5.6.2 Homogenisierdruck und Zusammensetzung der Emulsionen

Nachdem nun festgestellt werden konnte, dass sich die stabilitätsbeeinflussenden Faktoren innerhalb einer Algencharge hauptsächlich auf Ölgehalt, Polysaccharidgehalt und Homogenisierdruck beschränken, wurde auch der Zusammenhang und gemeinsame Einfluss auf die Emulsionsstabilität mit Hilfe eines statistischen Versuchsplans untersucht. Da der Druck nur in der Zehnerstelle reguliert werden kann, wurde auch hier ein D-optimaler Versuchsplan durchgeführt, der mit einem Mischungsdesign überlagert wurde (kombinierter Versuchsplan). Der Druck wurde hierbei erneut über den gesamten Druckbereich des Homogenisators von 130 bar bis 1000 bar variiert, der Ölgehalt lag zwischen 5% und 25% und der Polysaccharidgehalt wurde zwischen 2% und 5% variiert. Als Vorhomogenisierung wurde einheitlich über eine Minute bei 13500 rpm der Ultra-Turrax® aus Kapitel 5.6.1 verwendet. Die Zyklenzahl im Homogenisator wurde konstant auf 4 Zyklen gehalten. Als Zielgröße diente vor allem der in Kapitel 4.5.1 erläuterte TSI, der sowohl nach 28 Tagen als auch nach 120 Tagen bestimmt wurde. Während dieser Zeit wurden die Proben ohne Bewegung bei Raumtemperatur aufbewahrt. Zusätzlich wurde die direkt nach der Homogenisierung resultierende Tröpfchengröße betrachtet.

In den folgenden Darstellungen und Tabellen wird der Wasseranteil mit A bezeichnet, B ist der Ölgehalt, C der Polysaccharidgehalt und D der Homogenisierdruck.

Zunächst werden in Abbildung 5.6.9 die tatsächlich untersuchten Faktorkombinationen dargestellt:

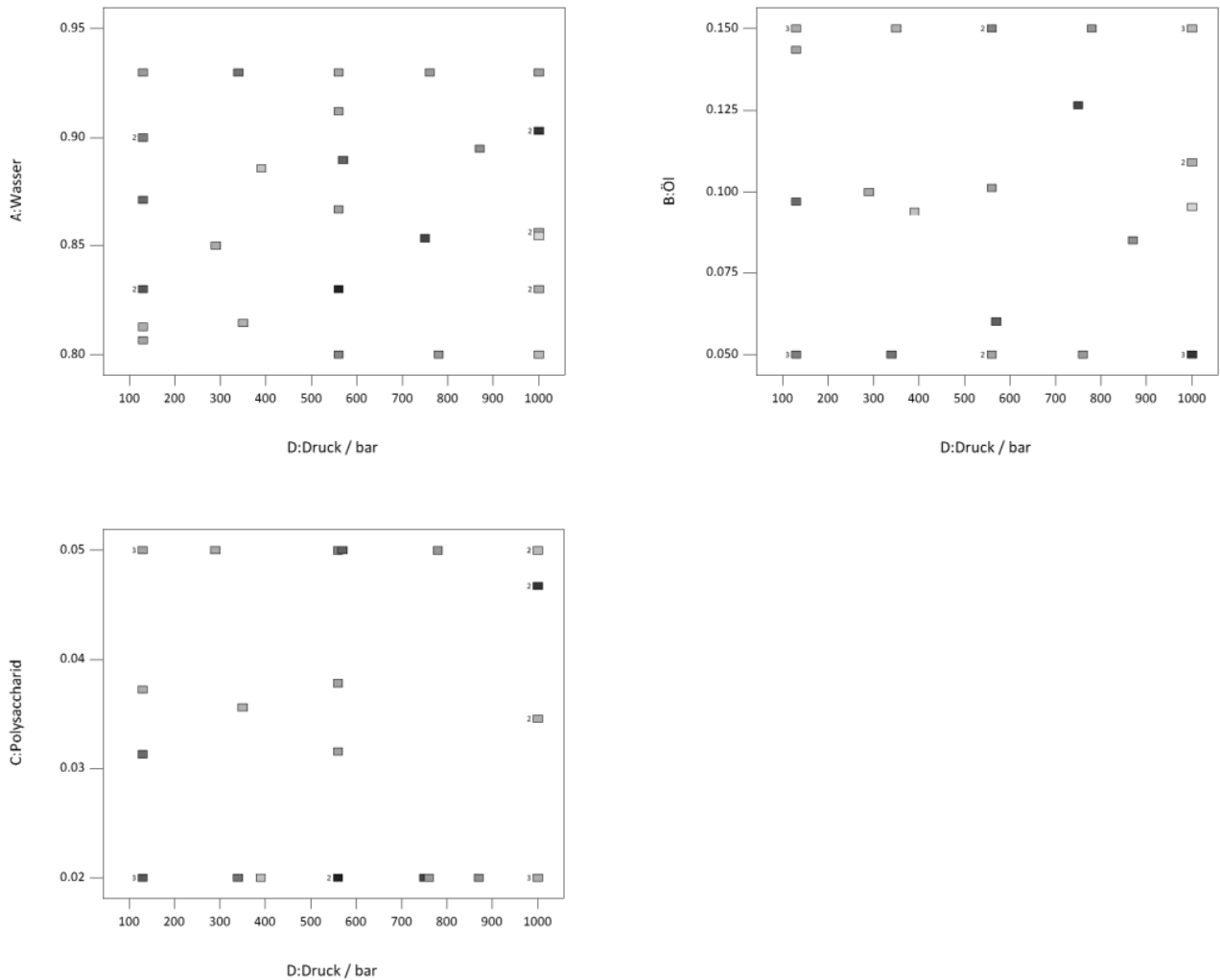


Abbildung 5.6.9: Faktorkombinationen zur Untersuchung des Einflusses von Homogenisierdruck und Zusammensetzung auf die Stabilität der Emulsionen

Insgesamt resultieren aus diesem Aufbau 31 Versuche, dabei sind insgesamt vier komplette Wiederholungen enthalten. Auch hier wäre ein niedriger und gleichmäßig verteilter Standardfehler erstrebenswert, da jedoch ein komplexeres Modell als im vorangegangenen Kapitel gewählt wurde, muss ein etwas höherer Fehler in Kauf genommen werden, der in Abbildung 5.6.10 beispielhaft für einen Polysaccharidgehalt von 3,5% dargestellt ist:

Design-Expert® Software
Component Coding: Actual
Factor Coding: Actual
Std Error of Design

X1 = A: Wasser
X2 = B: Öl
X3 = D: Druck / bar

Actual Component
C: Polysaccharid = 0.035

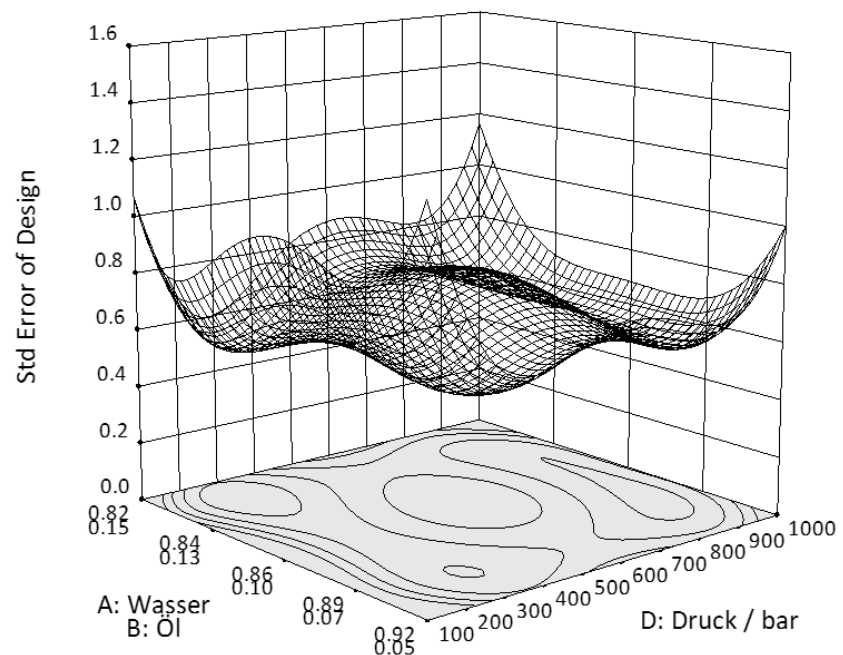


Abbildung 5.6.10: Verteilung des Standardfehlers zur Untersuchung des Einflusses von Homogenisierdruck und Zusammensetzung auf die Stabilität der Emulsionen bei einem Polysaccharidgehalt von 3,5%

Am Rand ist der Fehler am höchsten; der Fehler in der Mitte ist etwas höher als in den äußeren Bereichen, der Fehler an den Eckpunkten des Designs ist erneut deutlich erhöht. Diese Verteilung verändert sich nicht wesentlich bei einem anderen Polysaccharidgehalt, daher wird hier auf die weitere Darstellung verzichtet. Der starke Anstieg unterhalb von 130 bar erklärt sich dadurch, dass kein Druck unter 130 bar untersucht wurde, dieser Druckbereich gehört also nicht zum Versuchsraum.

Die Auswertung des TSI nach 28 Tagen erforderte erneut eine Transformation der Daten durch Ziehen der Quadratwurzel. Nach insgesamt 120 Tagen war keine Transformation der Daten mehr nötig. Die entsprechenden Varianzanalysen finden sich in Tabelle 8.1.3 und Tabelle 8.1.4. Mit $p < 0,0001$ konnte für beide Zielgrößen ein signifikantes Modell berechnet werden.

Beide Modelle sind komplex zusammengesetzt. Anhand der F-Werte für den Einfluss der linearen Mischung (209,662 nach 28 Tagen bzw. 678,63 nach 120 Tagen) ist zu erkennen, dass alleine diese schon einen großen Teil der Veränderung des TSI erklären kann. Dass dieses Modell die Daten recht gut beschreibt, zeigt sich zum einen in dem nicht signifikanten Lack of Fit ($p = 0,5$ bzw. $p = 0,9$), zum anderen ist dies auch an der Gegenüberstellung der berechneten und gemessenen Werte in Abbildung 5.6.11 zu erkennen.

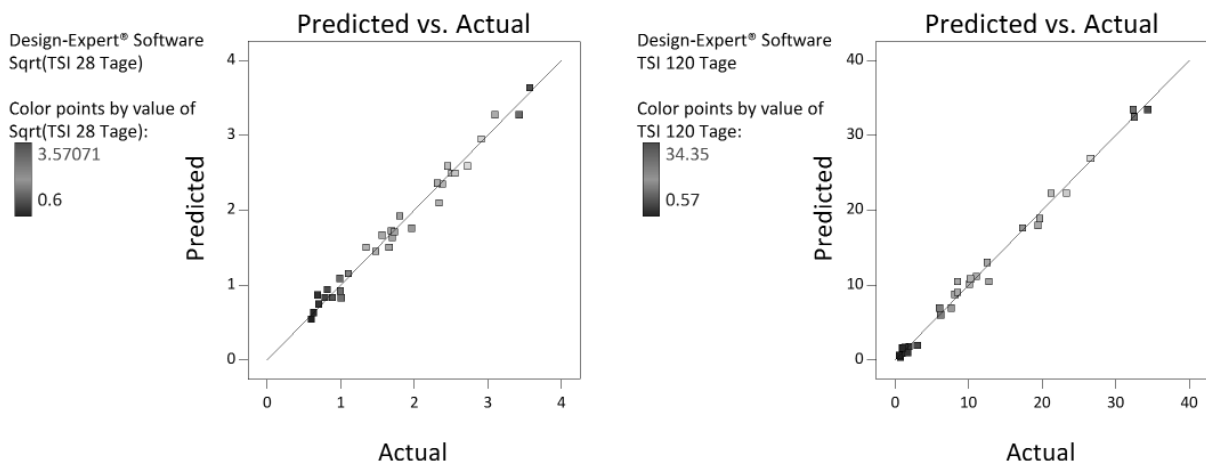


Abbildung 5.6.11: Berechnete und gemessene Werte für den TSI nach 28 (links) bzw. 120 Tagen (rechts)

Die Werte verlaufen zwar nicht streng auf der eingezeichneten Gerade, zeigen aber nur eine zufällige Streuung um diese herum. In Übereinstimmung damit stehen die Werte für adjusted und predicted R^2 : nach 28 Tagen gilt adjusted $R^2 = 0,9601$ und predicted $R^2 = 0,8508$ während nach 120 Tagen für adjusted $R^2 = 0,9848$ und predicted $R^2 = 0,9650$ berechnet wurde.

Eine weitere untersuchte Zielgröße war der Tröpfchendurchmesser der Emulsionen direkt nach der Homogenisierung. Die ANOVA der entsprechenden Ergebnisse ist in Tabelle 8.1.5 dargestellt. Es konnte ein signifikantes Modell ($p < 0,0001$) erstellt werden, dessen Lack of Fit mit $p = 0,1768$ nicht signifikant ist. Das Modell beschreibt die Daten mit adjusted $R^2 = 0,9785$ sehr gut und liefert mit predicted $R^2 = 0,9257$ auch eine gute Vorhersage neuer Daten. Grafisch ist für die

Tröpfchengröße in Abbildung 5.6.12 zu erkennen, dass gemessene und berechnete Werte in guter Übereinstimmung stehen:

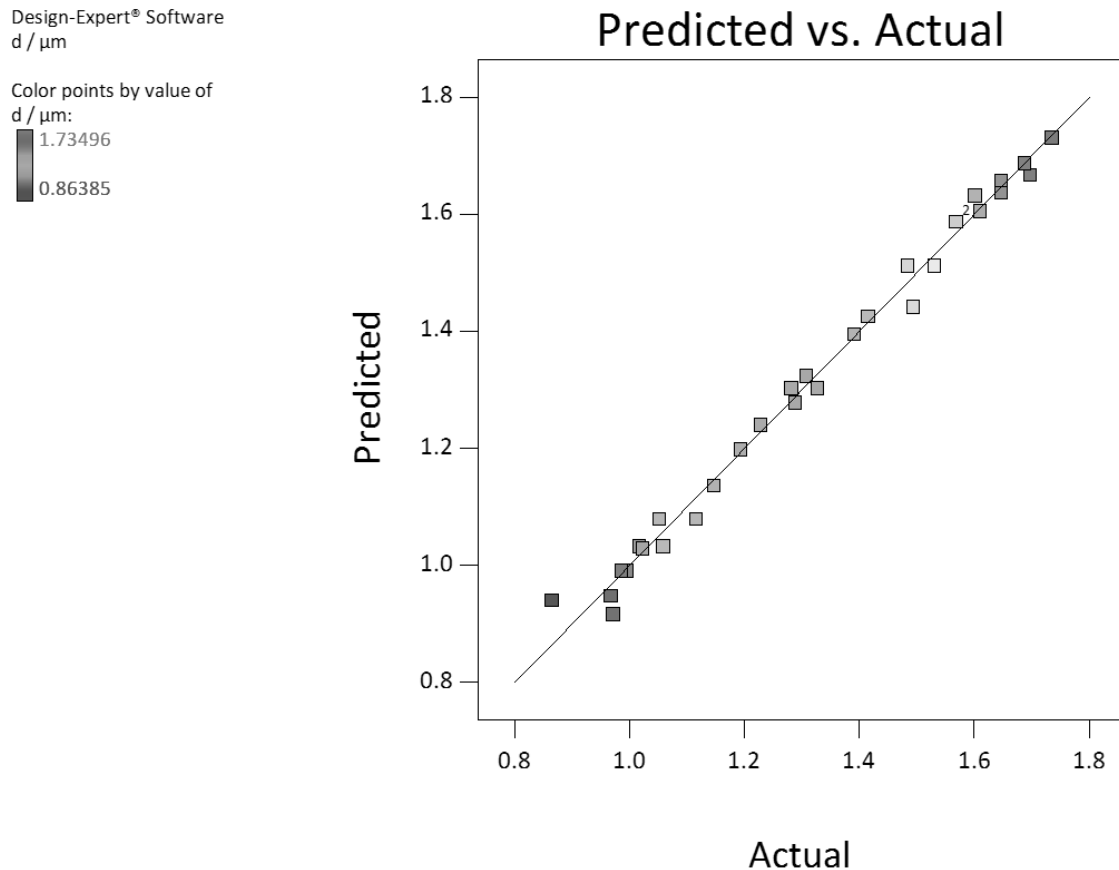


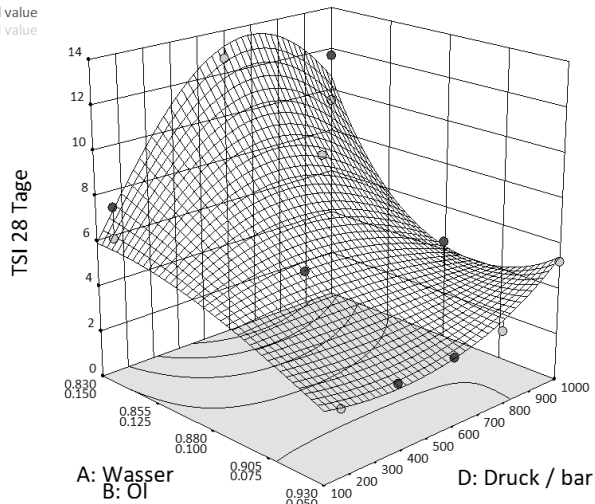
Abbildung 5.6.12: Gegenüberstellung der gemessenen und durch das Modell berechneten Tröpfchendurchmesser

Auch hier ist nur eine geringe zufällige Streuung um den idealen geraden Verlauf herum zu erkennen.

Da gezeigt werden konnte, dass alle betrachteten Modelle zu zufriedenstellenden Ergebnissen führten, werden im Folgenden die Ergebnisse dieser Untersuchungen dargestellt. Da es nicht möglich ist, alle Kombinationen auf einmal darzustellen, werden alle Zielgrößen in drei Stufen mit steigendem Polysaccharidgehalt betrachtet. Aus den vorangegangenen Untersuchungen ist dabei zu erwarten, dass eine Steigerung des Polysaccharidgehaltes die Emulsionsstabilität deutlich erhöhen sollte, dass ein höherer Ölgehalt einen destabilisierenden Effekt hat und der Einfluss des Druckes von der Zusammensetzung der Emulsionen abhängt.

Abbildung 5.6.13 zeigt die Emulsionsstabilität anhand des TSI nach 28 Tagen und nach 120 Tagen bei einem Polysaccharidgehalt von 2%.

Design-Expert® Software
 Component Coding: Actual
 Factor Coding: Actual
 Original Scale
 TSI 28 Tage
 ● Design points above predicted value
 ○ Design points below predicted value
 X1 = A: Wasser
 X2 = B: Öl
 X3 = D: Druck / bar
 Actual Component
 C: Polysaccharid = 0.020



Design-Expert® Software
 Component Coding: Actual
 Factor Coding: Actual
 Original Scale
 TSI 120 Tage
 ● Design points above predicted value
 ○ Design points below predicted value
 X1 = A: Wasser
 X2 = B: Öl
 X3 = D: Druck / bar
 Actual Component
 C: Polysaccharid = 0.020

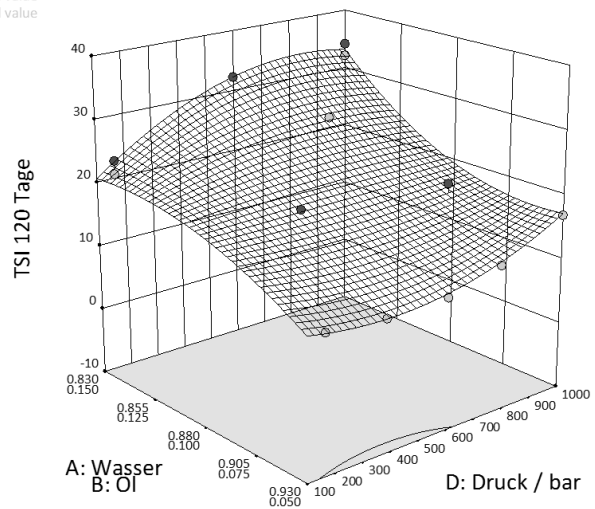


Abbildung 5.6.13: Turbiscan Stabilitätsindex nach 28 Tagen (oben) und 120 Tagen (unten) bei einem Polysaccharidgehalt von 2%

Bei diesem mit 2% sehr niedrigen Polysaccharidgehalt ist deutlich zu erkennen, dass die Emulsionen bei einem höheren Ölgehalt instabiler sind als bei niedrigem Ölgehalt (höherer TSI). Der hier dargestellte Einfluss des Homogenisierdruckes

zeigt tendenziell, dass ein höherer Druck zu instabileren Emulsionen führt. Ob bei einem Ölgehalt von 15% nach 28 Tagen tatsächlich ein Pessimum um die 500 bar vorliegt, kann aus diesen Daten nicht mit Gewissheit festgestellt werden. Da die Schwankungen im TSI nach 120 Tagen an dieser Stelle allerdings deutlich geringer sind, ist davon auszugehen, dass es sich um ein mathematisches Artefakt ohne praktische Relevanz handelt. Der Einfluss des Homogenisierdruckes auf die Emulsionsstabilität ist allerdings bei höherem Ölgehalt stärker ausgeprägt als bei einem geringen Ölgehalt.

Der Tröpfchendurchmesser dieser Emulsionen direkt nach der Homogenisierung ist in Abbildung 5.6.14 dargestellt:

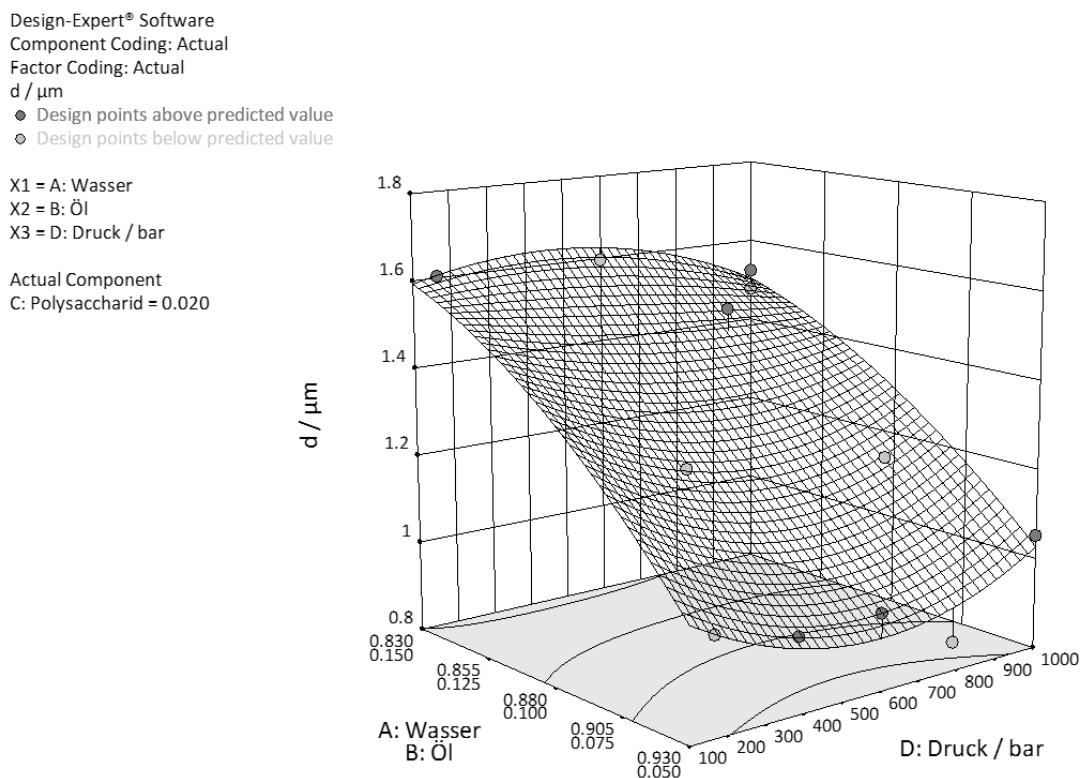


Abbildung 5.6.14: Tröpfchengröße der Emulsionen mit 2% Polysaccharidgehalt direkt nach der Hochdruckhomogenisierung

Hier zeigt sich erneut der Zusammenhang zwischen Emulsionsstabilität und Tröpfchengröße: bei hohem Ölgehalt sind die entstandenen Tröpfchen deutlich größer (ca. $1,6 \mu\text{m}$) als bei niedrigem Ölgehalt ($<1 \mu\text{m}$). Dieser Effekt lässt sich

dadurch erklären, dass die Polysaccharidmenge, die zur Oberflächenstabilisierung vorhanden ist, im Vergleich zum Öl immer geringer wird und daher keine großen Oberflächen (also kleine Tröpfchen) stabilisiert werden können.

Die hier dargestellte Kurvatur des Druckeinflusses muss mit Vorsicht betrachtet werden. Es scheint, als ob bei hohem (15%) Ölgehalt ein Druck von 1000 bar zu kleineren Tröpfchen führt als niedrigerer Druck (130 bar), während dieses Phänomen bei niedrigem Ölgehalt genau gegenteilig ausgeprägt ist. Dies widerspricht allerdings den gemachten Voruntersuchungen (siehe Kapitel 5.2.2) und könnte also auch ein mathematisches Artefakt sein.

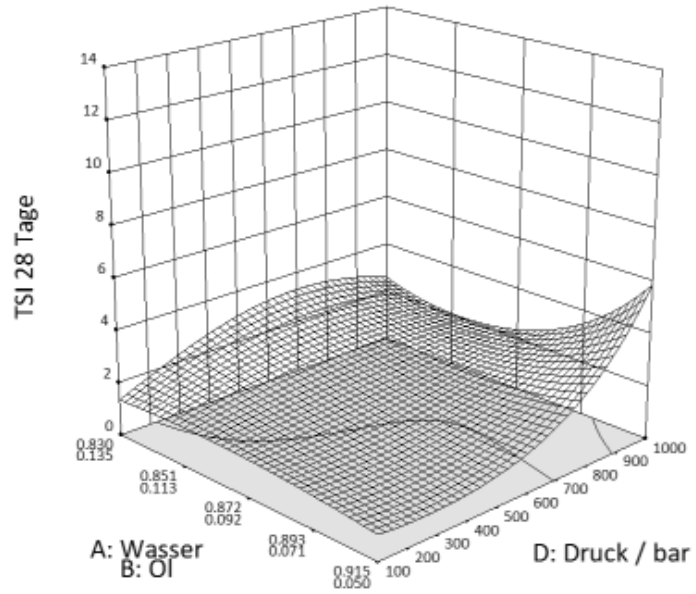
Eine Erhöhung des Polysaccharidgehaltes auf 3,5% führt zu den in Abbildung 5.6.15 folgenden Ergebnissen. Hier ist bereits eine erhöhte Emulsionsstabilität (insgesamt niedrigerer TSI) zu beobachten. Bei hohem Druck steigt anscheinend nach 28 Tagen die Stabilität mit einer Erhöhung des Ölgehaltes leicht an, dieser Effekt ist jedoch nach 120 Tagen in Richtung eines Optimums bei ca. 10% Ölgehalt verschoben, sodass auch hier eher von einem mathematischen als von einem praktisch relevanten Effekt ausgegangen werden sollte. Bemerkenswert ist außerdem, dass sich der destabilisierende Einfluss eines höheren Homogenisierdruckes hier sowohl nach 28 als auch nach 120 Tagen vor allem bei einem geringen Ölgehalt von 5% wiederfinden lässt. Bei niedrigem Homogenisierdruck hingegen scheint der Einfluss des Ölgehaltes auf die Emulsionsstabilität nach 28 Tagen zwar vernachlässigbar zu sein, nach 120 Tagen ist jedoch zu sehen, dass der TSI umso niedriger (die Stabilität also höher) ist, je niedriger auch der Ölgehalt der Emulsionen ist.

Optimierung von Prozess und Zusammensetzung

Design-Expert® Software
 Component Coding: Actual
 Factor Coding: Actual
 Original Scale
 TSI 28 Tage

X1 = A: Wasser
 X2 = B: Öl
 X3 = D: Druck / bar

Actual Component
 C: Polysaccharid = 0.035



Design-Expert® Software
 Component Coding: Actual
 Factor Coding: Actual
 TSI 120 Tage

● Design points above predicted value
 ○ Design points below predicted value

X1 = A: Wasser
 X2 = B: Öl
 X3 = D: Druck / bar

Actual Component
 C: Polysaccharid = 0.035

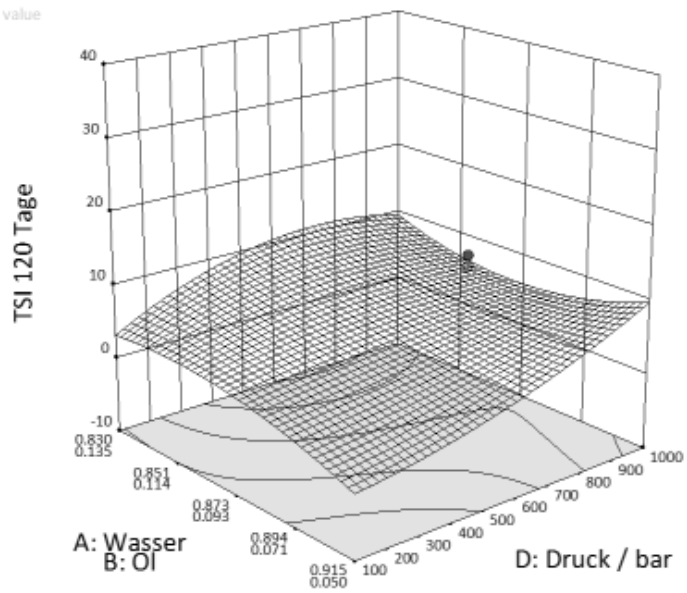


Abbildung 5.6.15: Turbiscan Stabilitätsindex nach 28 Tagen (oben) und 120 Tagen (unten) bei einem Polysaccharidgehalt von 3,5%

Die entsprechenden Tröpfchengrößen sind in der folgenden Abbildung 5.6.16 dargestellt:

Design-Expert® Software
 Component Coding: Actual
 Factor Coding: Actual
 d / μm
 ● Design points above predicted value
 ○ Design points below predicted value

X1 = A: Wasser
 X2 = B: Öl
 X3 = D: Druck / bar

Actual Component
 C: Polysaccharid = 0.035

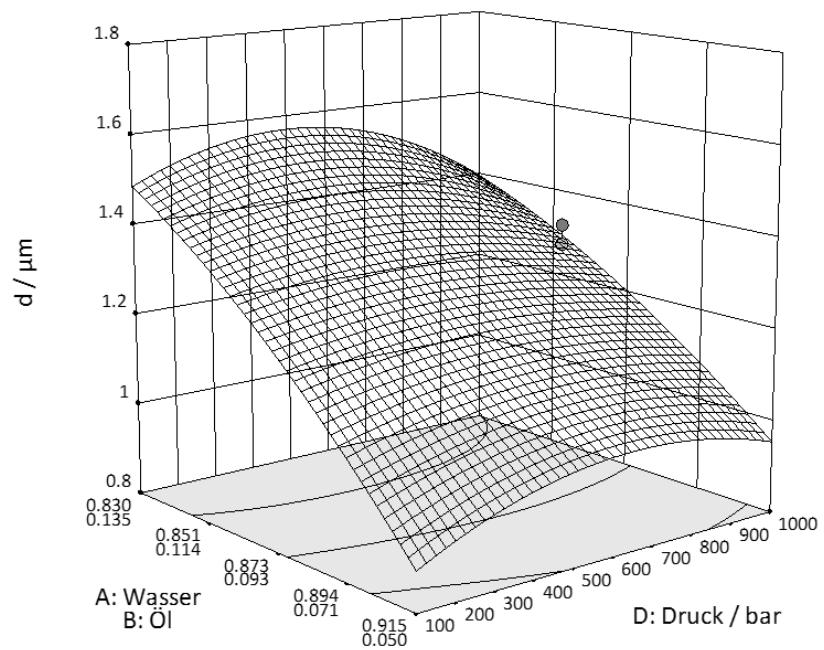


Abbildung 5.6.16: Tröpfchengröße der Emulsionen mit 3,5% Polysaccharidgehalt direkt nach der Hochdruckhomogenisierung

Im Vergleich zu dem niedrigeren Polysaccharidgehalt sind die Tröpfchengrößen annähernd unverändert mit etwa $1,6 \mu\text{m}$ bei 15% Ölgehalt und $<1 \mu\text{m}$ bei 5% Ölgehalt. Auch hier sollte der Einfluss des Homogenisierdruckes nicht überbewertet werden, es hat aber den Anschein, dass bei niedrigem Ölgehalt der niedrigste Druck zu den kleinsten Tröpfchen führt, während bei hohem Ölgehalt der gegenteilige Effekt auftritt.

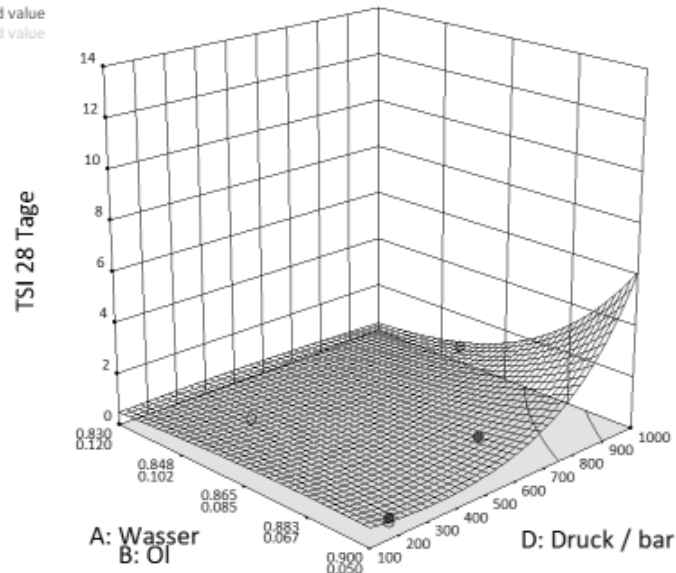
Die erhöhte Stabilität der Emulsionen mit 3,5% Polysaccharidgehalt gegenüber 2% Polysaccharidgehalt scheint also weniger auf eine verringerte Tröpfchengröße zurückzuführen zu sein, als vielmehr zumindest anteilig auch auf andere Veränderungen wie beispielsweise eine Erhöhung der Viskosität durch den erhöhten Polysaccharidgehalt.

Bei dem höchsten untersuchten Polysaccharidgehalt von 5% sind schließlich die stabilsten Emulsionen des Versuchsplanes zu beobachten, wie Abbildung 5.6.17 zu entnehmen ist:

Design-Expert® Software
 Component Coding: Actual
 Factor Coding: Actual
 Original Scale
 TSI 28 Tage
 ● Design points above predicted value
 ○ Design points below predicted value

 X1 = A: Wasser
 X2 = B: Öl
 X3 = D: Druck / bar

 Actual Component
 C: Polysaccharid = 0.050



Design-Expert® Software
 Component Coding: Actual
 Factor Coding: Actual
 Original Scale
 TSI 120 Tage
 ● Design points above predicted value
 ○ Design points below predicted value

 X1 = A: Wasser
 X2 = B: Öl
 X3 = D: Druck / bar

 Actual Component
 C: Polysaccharid = 0.050

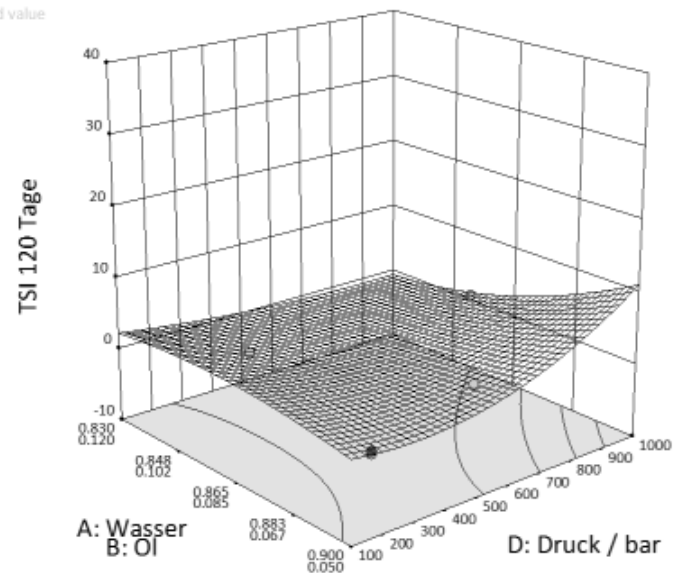


Abbildung 5.6.17: Turbiscan Stabilitätsindex nach 28 Tagen (oben) und 120 Tagen (unten) bei einem Polysaccharidgehalt von 5%

Ein leicht erhöhter TSI wurde hier nur noch bei niedrigem Ölgehalt und der Herstellung bei einem hohen Homogenisierdruck beobachtet. Für eine andere Zusammensetzung und Homogenisierdruck unterhalb von 500 bar waren mit diesem Polysaccharidgehalt alle beobachteten Emulsionen über den Beobachtungszeitraum von 120 Tagen als stabil zu bezeichnen. Eine weitere Erhöhung des Polysaccharidgehaltes wäre nicht praktikabel, da die Polysaccharidlösungen selbst schon eine sehr hohe Viskosität aufweisen und die Polysaccharide sich nur sehr langsam lösen. Da außerdem bei der richtigen Wahl der Homogenisierungsparameter bereits mit 5% Polysaccharid stabile Emulsionen hergestellt werden können, ist eine weitere Erhöhung des Materialeinsatzes nicht sinnvoll.

Auch hier wurde zusätzlich der Einfluss von Zusammensetzung und Homogenisierdruck auf die resultierende Tröpfchengröße untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.6.18 dargestellt:

Design-Expert® Software
 Component Coding: Actual
 Factor Coding: Actual
 d / μm
 ● Design points above predicted value
 ○ Design points below predicted value

X1 = A: Wasser
 X2 = B: Öl
 X3 = D: Druck / bar

Actual Component
 C: Polysaccharid = 0.050

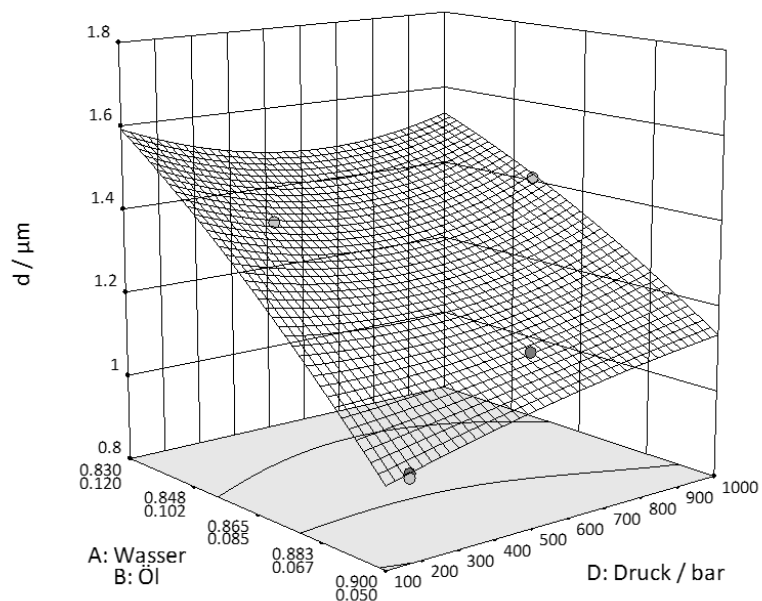


Abbildung 5.6.18: Tröpfchengröße der Emulsionen mit 5% Polysaccharidgehalt direkt nach der Hochdruckhomogenisierung

Die mit 5% Polysaccharidgehalt gemessenen und berechneten Tröpfchengrößen liegen bei 15% Ölgehalt etwas unterhalb derjenigen bei nur 3,5% Polysaccharidgehalt, bei 5% Öl und 1000 bar etwas oberhalb doch die Unterschiede sind sehr gering und vermutlich weniger stabilitätsrelevant als die mit einer weiteren Erhöhung des Polysaccharidgehaltes einhergehende Erhöhung der Viskosität der wässrigen Phase.

Um den aufgrund der Beobachtungen vermuteten Einfluss der Viskosität zu unterstützen, wurden wässrige Lösungen der in den Versuchsplänen verwendeten Polysaccharidcharge hergestellt und im Zylinder-Becher-Rheometer vermessen. Der Konzentrationsbereich ist dabei so gewählt, dass die Konzentrationen an Polysaccharid den der äußeren Phase im Versuchsplan abdecken. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.6.19 dargestellt.

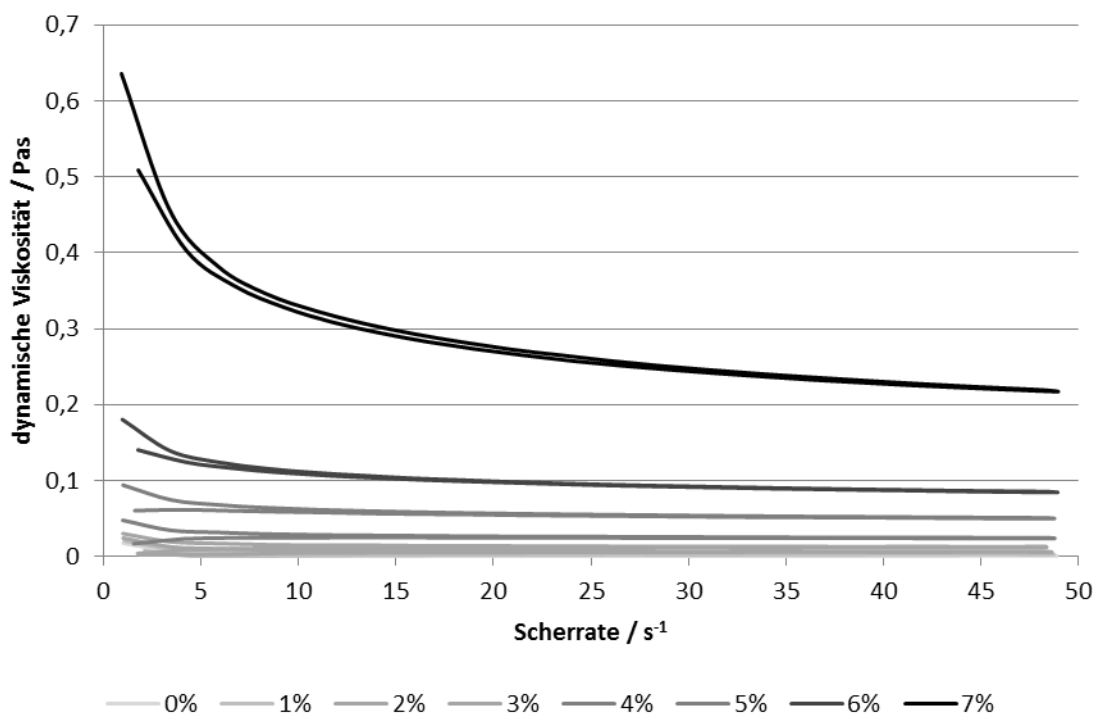


Abbildung 5.6.19: Fließkurven von unterschiedlich konzentrierten wässrigen Polysaccharidlösungen ($n = 1$)

Alle Lösungen zeigen ein mehr oder weniger stark ausgeprägtes pseudoplastisches Fließverhalten. Der Anstieg in der Viskosität ist vor allem bei dem Sprung von 6% zu 7% Polysaccharid sehr deutlich ausgeprägt. Die im Rahmen des Versuchsplanes

stabilsten Emulsionen haben bezogen auf die wässrige Phase einen Polysaccharidgehalt von 5,6% bis 6,2%, was einer Scherviskosität von knapp 100 mPa·s entspricht. Da sich allerdings die Fließkurven zur Darstellung von Zusammenhang zwischen der Viskosität der äußeren Phase und anderen Kenngrößen der Emulsionen nicht gut eignen, wurde die Viskosität dieser Lösungen ebenfalls mit dem Vibro-Viskosimeter bestimmt (Dreifachbestimmung), um nur einen Zahlenwert auszuwerten. Die Veränderung der Viskosität mit der Konzentration, die so ermittelt wurde, ist in Abbildung 5.6.20 dargestellt.

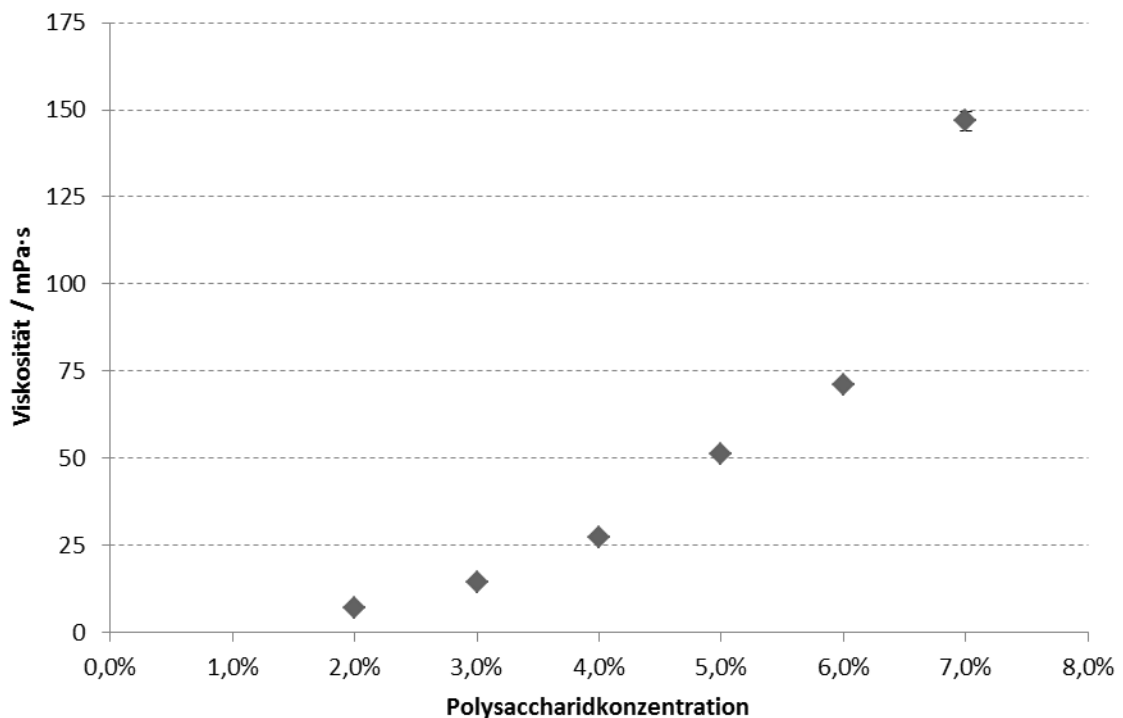


Abbildung 5.6.20: Viskosität wässriger Polysaccharidlösungen ($n = 3$; Fehlerbalken = Standardabweichung)

Ein Vergleich der Ergebnisse beider Methoden zeigt zwar, dass eine direkte Vergleichbarkeit nicht gegeben ist, aber die Entwicklung der Viskosität mit steigender Konzentration ist nach beiden Methoden als ähnlich einzuschätzen. Anhand der hier dargestellten Kurve wurde daher die Viskosität der äußeren Phase der Emulsionen aus dem statistischen Versuchsplan abgeschätzt.

Um die wesentlichen Stabilisierungsparameter der untersuchten Emulsionen deutlicher herauszustellen, wurden die im Rahmen des Versuchsplanes gewonnenen Daten auf unterschiedliche Art gegeneinander aufgetragen und es wurde bewertet, ob eine zufällige Streuung oder ein Trend zu erkennen ist.

Als erstes wurde der TSI nach 120 Tagen gegen den Tröpfchendurchmesser der frisch hergestellten Emulsionen aufgetragen (Abbildung 5.6.21):

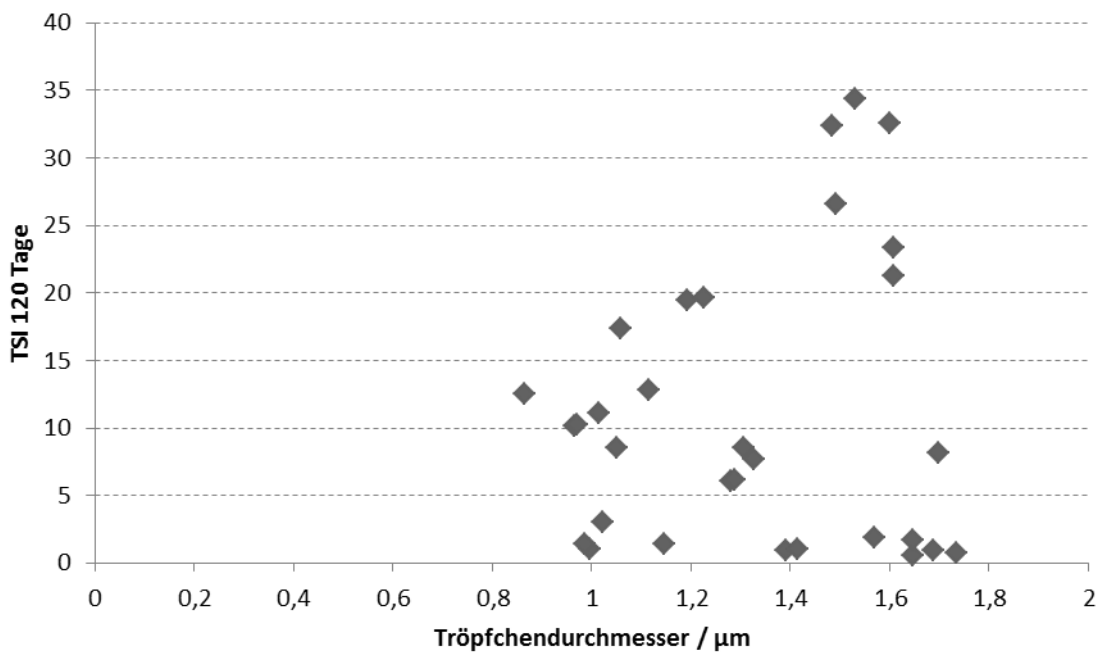


Abbildung 5.6.21: Einfluss des Tröpfchendurchmessers nach der Homogenisierung auf den TSI nach 120 Tagen

Wie bereits aufgrund der Ergebnisse des Versuchsplanes vermutet wurde, ist die Tröpfchengröße nicht alleine für die Stabilität entscheidend, ein direkter Zusammenhang zwischen diesen beiden Größen kann nicht festgestellt werden.

Da die nächste Vermutung war, dass die Viskosität der Polysaccharidlösungen für die Stabilität der Emulsionen ausschlaggebend sein könnte, folgt in Abbildung 5.6.22 nun die Darstellung des TSI nach 120 Tagen gegen die Viskosität der äußeren Phase:

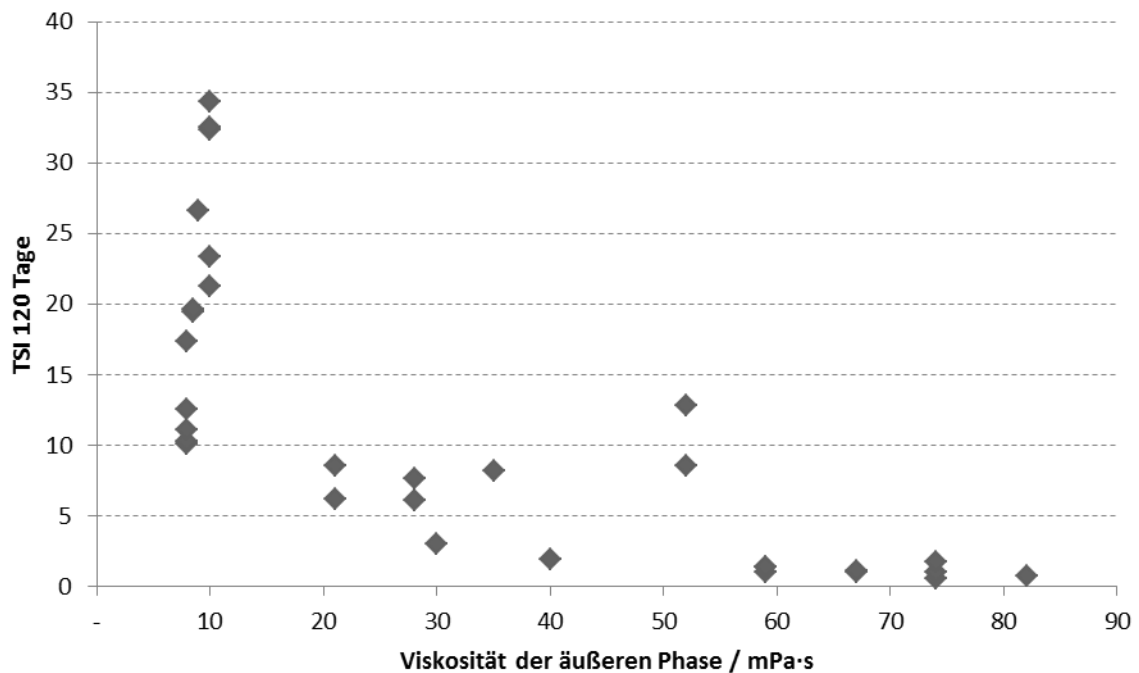


Abbildung 5.6.22: Einfluss der Viskosität der äußeren Phase auf den TSI nach 120 Tagen

Hier lässt sich ein Trend dahingehend erkennen, dass mit steigender Viskosität tatsächlich ein niedrigerer TSI zu beobachten ist. Bei einer niedrigen Viskosität gibt es weitere Einflussfaktoren; die Werte des TSI unterscheiden sich noch sehr stark. Je höher die Viskosität jedoch wird, desto geringer werden diese Schwankungen. Bei der Betrachtung der Viskosität muss beachtet werden, dass eine hohe Viskosität der äußeren Phase in Emulsionen zwar dazu führt, dass das Aufrahmen verlangsamt wird, im Hochdruckhomogenisator bedeutet jedoch eine hohe Viskosität auch, dass die Bildung kleinerer Tröpfchen primär erschwert wird. Dieses Zusammenspiel der Tröpfchengröße und der Viskosität wird daher im Folgenden ebenfalls näher beleuchtet.

Da im Gesetz nach Stokes r^2 im Zähler und die Viskosität im Nenner eingehen, wird auch dieser Quotient im Zusammenhang zu dem TSI in Abbildung 5.6.23 grafisch dargestellt:

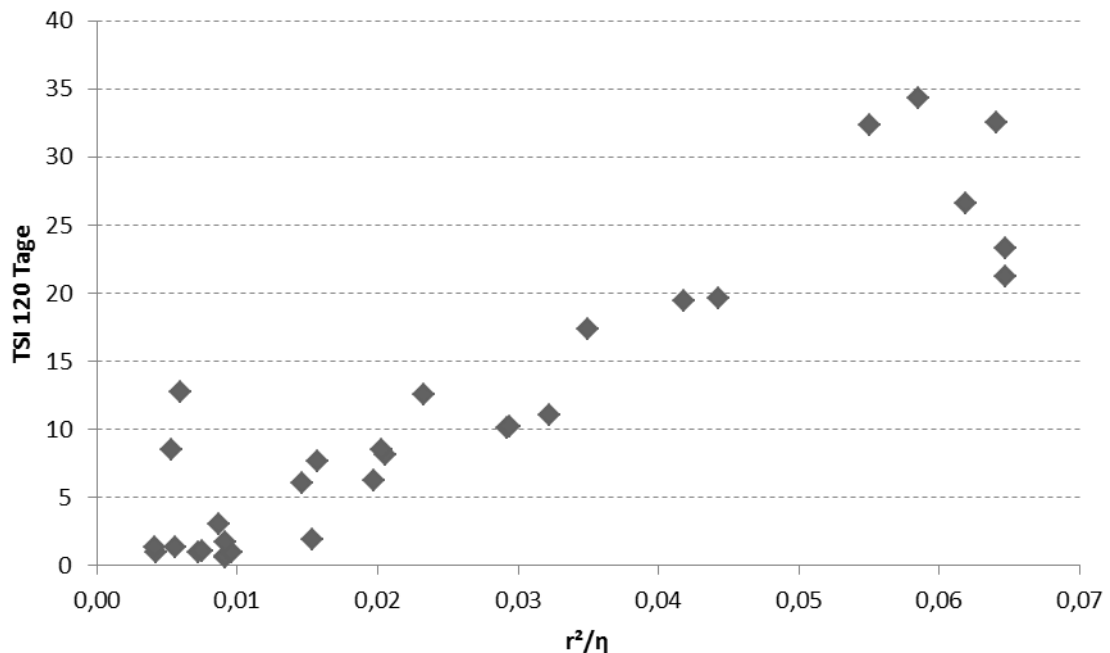


Abbildung 5.6.23: Beeinflussung des TSI nach 120 Tagen durch den Quotienten aus dem quadrierten Tröpfchenradius und der Viskosität

Es ist deutlich zu erkennen, dass der TSI klein ist, die Stabilität der Emulsionen also hoch, wenn auch der Quotient klein ist. Je höher der Quotient aus Tröpfchenradius und Viskosität wird, desto instabiler sind die Emulsionen. Der Zusammenhang ist nicht vollkommen linear – gerade im oberen und unteren Wertebereich streuen die Werte stärker – da aber auch das Stokes'sche Gesetz keinen linearen Zusammenhang beschreibt, wenn sich die Zusammensetzung der Emulsionen verändert, war dies auch nicht zu erwarten.

Um einen möglichen Einfluss des Homogenisierdruckes auf die Emulsionsstabilität darzulegen, wird in Abbildung 5.6.24 der entsprechende Zusammenhang dargestellt:

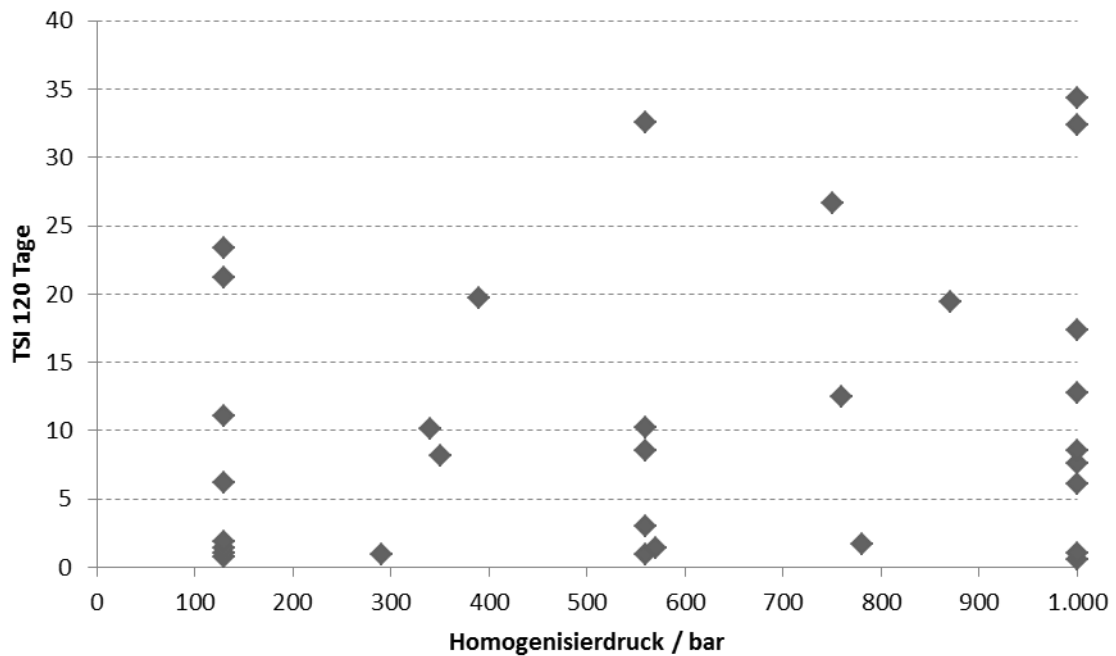


Abbildung 5.6.24: Zusammenhang zwischen dem Homogenisierdruck und dem TSI nach 120 Tagen

Es ist sehr deutlich zu sehen, dass der Homogenisierdruck alleine die Emulsionsstabilität nicht beeinflusst. Es kann vielmehr geschlossen werden, dass die Herstellung stabiler Emulsionen druckunabhängig über den gesamten untersuchten Bereich möglich ist.

Der die Stabilität der Emulsionen am stärksten beeinflussende Faktor muss daher die Zusammensetzung der Emulsionen sein. In der folgenden Grafik wird daher der TSI nach 120 Tagen zunächst gegen jeweils den Gehalt an Wasser, Öl und Polysaccharid aufgetragen:

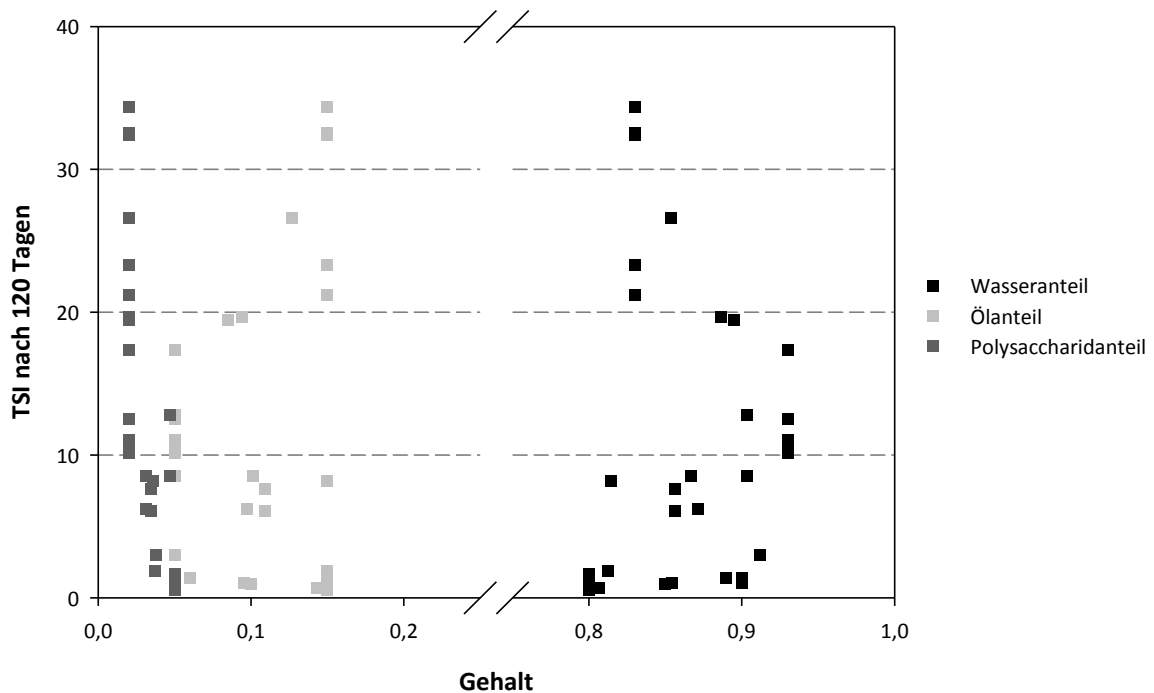


Abbildung 5.6.25: Beeinflussung des TSI nach 120 Tagen durch den Gehalt der Einzelkomponenten

Sehr deutlich zu erkennen ist, dass weder der Wasseranteil noch der Ölanteil alleine einen eindeutig ausgeprägten Einfluss auf den TSI nehmen, ein steigender Polysaccharidgehalt jedoch durchaus einen gesenkten TSI und damit eine erhöhte Stabilität der Emulsionen zur Folge hat. Bei einem Polysaccharidgehalt von 2% gehen weitere Faktoren mit in die Beeinflussung des TSI ein, je größer der Polysaccharidgehalt jedoch wird, desto geringer wird die Schwankung innerhalb des TSI. Dieser Einfluss ist dem beobachteten Einfluss der Viskosität ähnlich - diese Aussagen stützen sich also gegenseitig, da die Viskosität mit dem Polysaccharidgehalt ansteigt.

Zusammenfassend wird nun der Polysaccharidgehalt einerseits bezogen auf die Ölphase und andererseits bezogen auf die Wasserphase dargestellt (Abbildung 5.6.26):

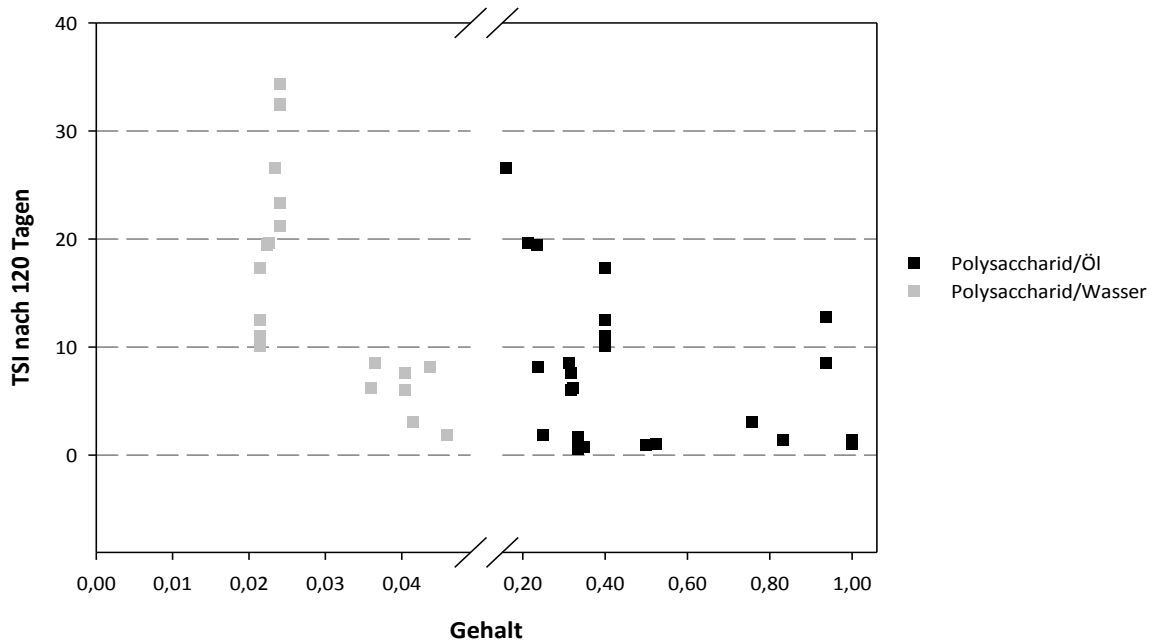


Abbildung 5.6.26: Beeinflussung des TSI nach 120 Tagen durch die Relation zwischen Polysaccharidgehalt und Ölgehalt bzw. Wassergehalt

Der Polysaccharidgehalt bezogen auf den Wasseranteil beeinflusst dabei vor allem die Viskosität, dementsprechend ist der bereits bekannte Zusammenhang zu beobachten. Interessant ist, dass auch ein steigender Polysaccharidgehalt bezogen auf die vorhandene Ölphase einen leichten Trend hin zu stabileren Emulsionen zeigt. Je mehr Polysaccharid je Öl also zur Verfügung steht, desto stabiler sind die Emulsionen.

Zu vermuten ist dabei, dass dies auf die Möglichkeit zur Stabilisierung einer größeren Gesamtoberfläche und damit kleinere Tröpfchen zurückgeführt werden kann. Eine entsprechende Gegenüberstellung der Tröpfchengröße gegen den Polysaccharidgehalt je Ölanteil stützt diese Vermutung (Abbildung 5.6.27):

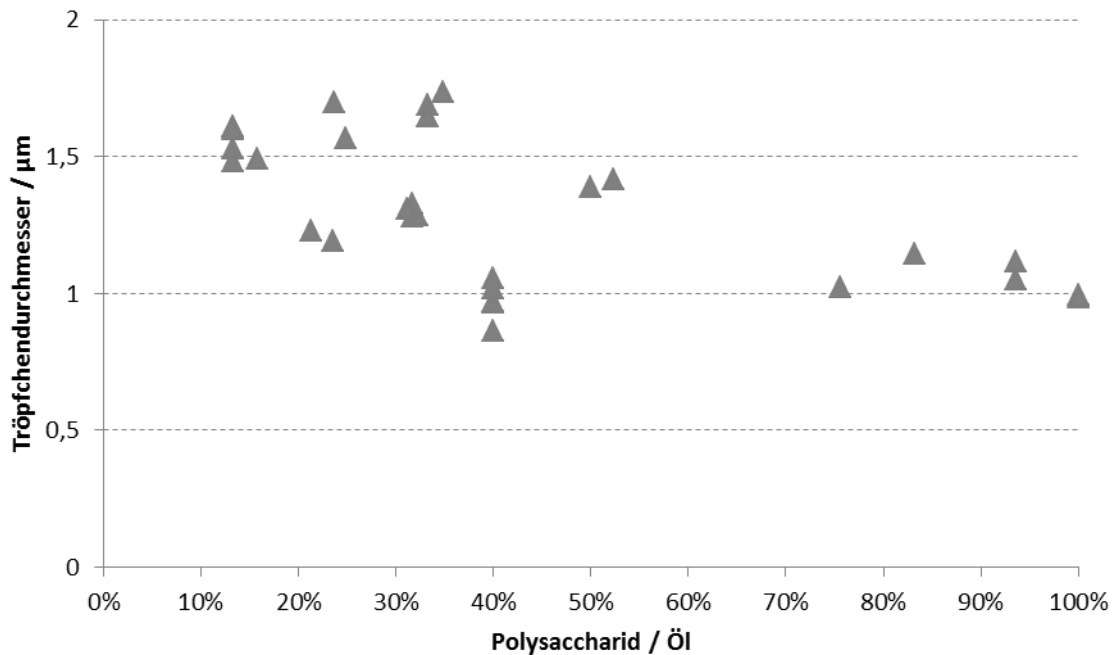


Abbildung 5.6.27: Beeinflussung der Tröpfchengröße durch die je Öl zur Verfügung stehende Polysaccharidmenge

Es ist deutlich zu erkennen, dass die Tröpfchen immer kleiner werden, je mehr Polysaccharid in Relation zum Öl zur Verfügung steht. Ein Überschuss an Polysaccharid im Vergleich zum Öl wurde hier nicht untersucht, da Polysaccharidkonzentrationen über 5% aufgrund der hohen Viskosität praktisch schwer zu realisieren sind und ein Ölgehalt in einer Emulsion von unter 5% nicht praxisrelevant wäre.

Zusammenfassend lässt sich also festhalten, dass die stabilsten Emulsionen unter den folgenden Bedingungen herzustellen sind:

- hohe Viskosität der äußeren Phase,
- hoher Polysaccharidgehalt,
- hohes Verhältnis von Polysaccharid zu Öl und
- geringes Verhältnis zwischen dem Tröpfchenradius und der Viskosität.

Die meisten dieser Punkte lassen sich durch den Einsatz hoher Polysaccharidkonzentrationen erreichen. Limitierend wirkt hier allerdings die Viskosität der äußeren Phase, also der Polysaccharidlösung, da auch eine Verarbeitung im Homogenisator möglich sein muss. Der Einfluss der weiteren Parameter

- Homogenisierdruck,
- Tröpfchengröße,
- Anteil an Öl und
- Anteil an Wasser

hingegen ist nicht so stark ausgeprägt, dass diese alleine die Stabilität der Emulsionen beeinflussen können.

5.7 Stabilisierung der Emulsionen durch Gelbildung

Da in dem als Emulgator eingesetzten Polysaccharidgemisch auch Alginat enthalten ist, wurde untersucht, ob es möglich ist, die Gelbildungseigenschaften von Alginat zur zusätzlichen Stabilisierung der Emulsionen auszunutzen. Zur Gelierung von alginathaltigen Lösungen sind vor allem zwei Methoden üblich: eine Absenkung des pH-Wertes beispielsweise über eine Zugabe von Salzsäure, oder der Zusatz von Ca^{2+} -Ionen durch den Zusatz von Calciumchlorid (vergleiche auch Kapitel 2.3.2).

5.7.1 Zusatz von Salzsäure

Als Modellemulsionen wurden die Emulsionen vereinigt, die im Rahmen der Untersuchungen zur Vorhomogenisierung (Abschnitt 5.6.1) hergestellt wurden. Sie enthielten also als lipophile Phase mittelkettige Triglyceride in einem Anteil von 15% und wurden über 4 Zyklen bei 300 bar homogenisiert.

Zu jeweils 20 g dieser Emulsionen wurden 5 g HCl gegeben, wobei die Konzentration der Salzsäure in zehn Schritten von 0 bis 0,2 N variiert wurde. Die Emulsionen wurden anschließend für 15 Minuten im Turbiscan™ vermessen. Die Wanderung der Phasengrenze ist in Abbildung 5.7.1 dargestellt:

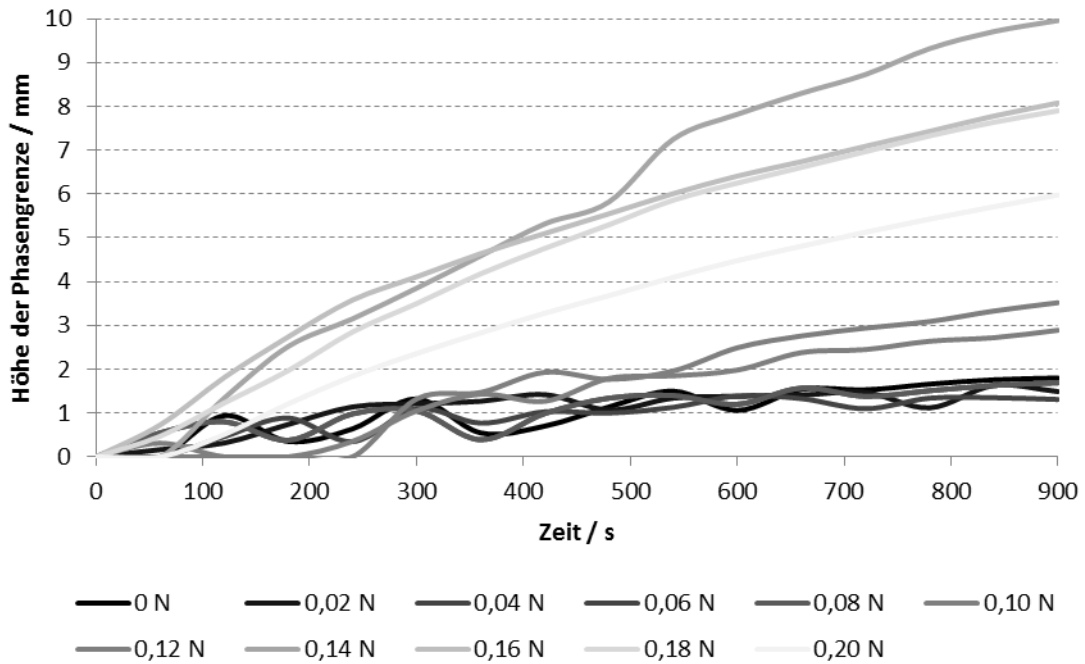


Abbildung 5.7.1: Wanderung der Phasengrenze in Emulsionen, denen Salzsäure unterschiedlicher Konzentration zugesetzt wurde

Es ist zu sehen, dass durch den Zusatz von Salzsäure kein stabilisierender Effekt erzeugt werden kann. Im Bereich hoher Salzsäurekonzentrationen (helle Kurven) wandert die Phasengrenze deutlich schneller nach oben, als ohne Salzsäurezusatz (schwarze Kurve). Optisch resultierte der Salzsäurezusatz zudem in einer Flockung der Emulsionen, die anscheinend durch Ausfällung des Alginates in Form von Alginsäure bedingt war.

5.7.2 Zusatz von Calciumchlorid

Für die Untersuchung des Calciumchlorid-Einflusses wurde eine ähnliche Vorgehensweise wie in Abschnitt 5.7.1 beschrieben gewählt. Zu 20 g der Modellemulsion wurden 5 g einer Calciumchlorid-Lösung zugesetzt, deren Konzentration in acht Schritten von 0% bis 2% variiert wurde. Auch hier wurde der Verlauf der Phasengrenze im Turbiscan™ für 15 Minuten verfolgt (siehe Abbildung 5.7.2)

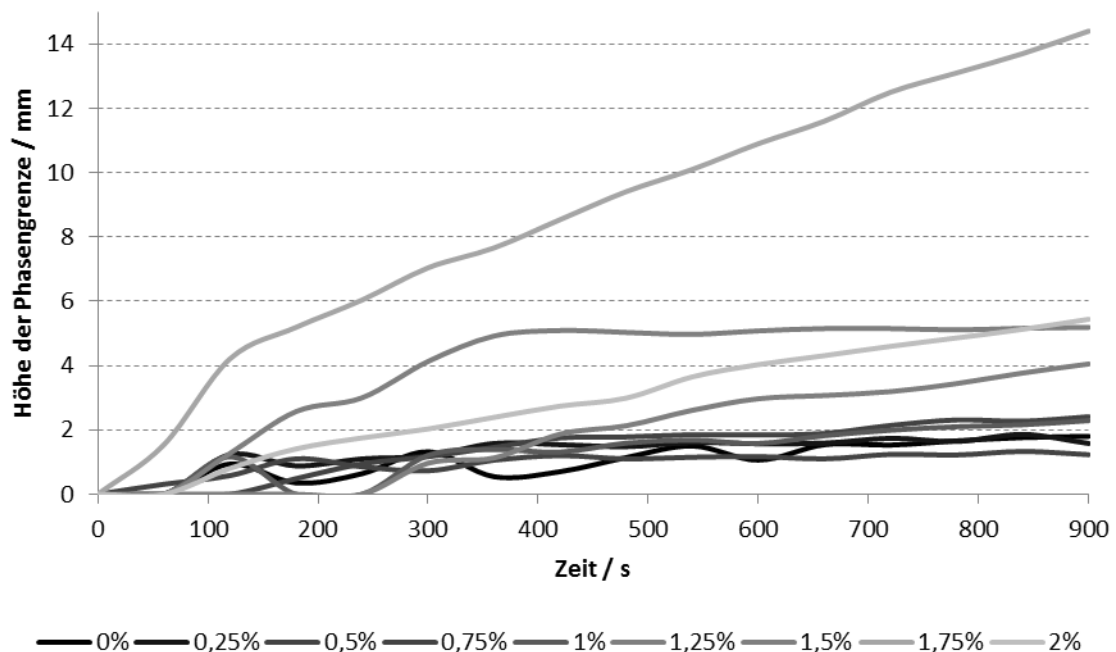


Abbildung 5.7.2: Wanderung der Phasengrenze in Emulsionen, denen Calciumchlorid unterschiedlicher Konzentration zugesetzt wurde

Es konnte ebenfalls keine Stabilisierung der Emulsionen erreicht werden, sondern diese Emulsionen wurden durch die Bildung des schwerlöslichen Calciumalginates destabilisiert, wie an der schnellen Wanderung der Phasengrenzen in den Emulsionen mit höherem Zusatz von Calciumchlorid (hellere Kurven) zu sehen ist. In diesen Emulsionen konnte – wie in denen mit Salzsäure-Zusatz – optisch eine Ausfällung beobachtet werden.

5.7.3 Zusatz von Carbomer

Da gezeigt werden konnte, dass eine Ausnutzung der Gelbildungsfähigkeiten von Alginat zur Emulsionsstabilisierung nicht geeignet ist, sogar im Gegenteil zu einer Destabilisierung führt, wurde ein weiterer Gelbildner zugesetzt. Die Wahl fiel auf Carbomer Ph. Eur. (Carbomer 50000), das nach Basenzugabe in Wasser klare Gele bildet. Weiterhin zeigt Carbomer selbst keine emulsionsstabilisierenden Eigenschaften. Es wurden erneut die in 5.6.1 hergestellten und anschließend vereinigten Emulsionen verwendet. Eine Mischung aus Carbomer und Trometamol im Verhältnis von 1 + 1,3 Masseteilen wurde anteilig mit der Emulsion versetzt und angerieben, bis die Gesamtmasse von 25 g erreicht war. Anschließend wurden die Emulsionen bei 13500 rpm mit einem Ultra-Turrax® behandelt um den Gelbildner zu dispergieren. Diese Vorgehensweise ist möglich, da Carbomer-stabilisierte Gele zwar konzentrationsabhängig pseudoplastisches bzw. plastisches Fließen zeigen, jedoch durch die hohen Scherkräfte nicht zerstört werden. Als Konzentrationsbereich für das Carbomer wurden Zusätze von 0% bis 1% untersucht. Die Untersuchung der Stabilität erfolgte wie schon in den beiden vorangehenden Abschnitten über jeweils 15 Minuten im Turbiscan™.

Die entsprechenden Kurven sind in Abbildung 5.7.3 dargestellt:

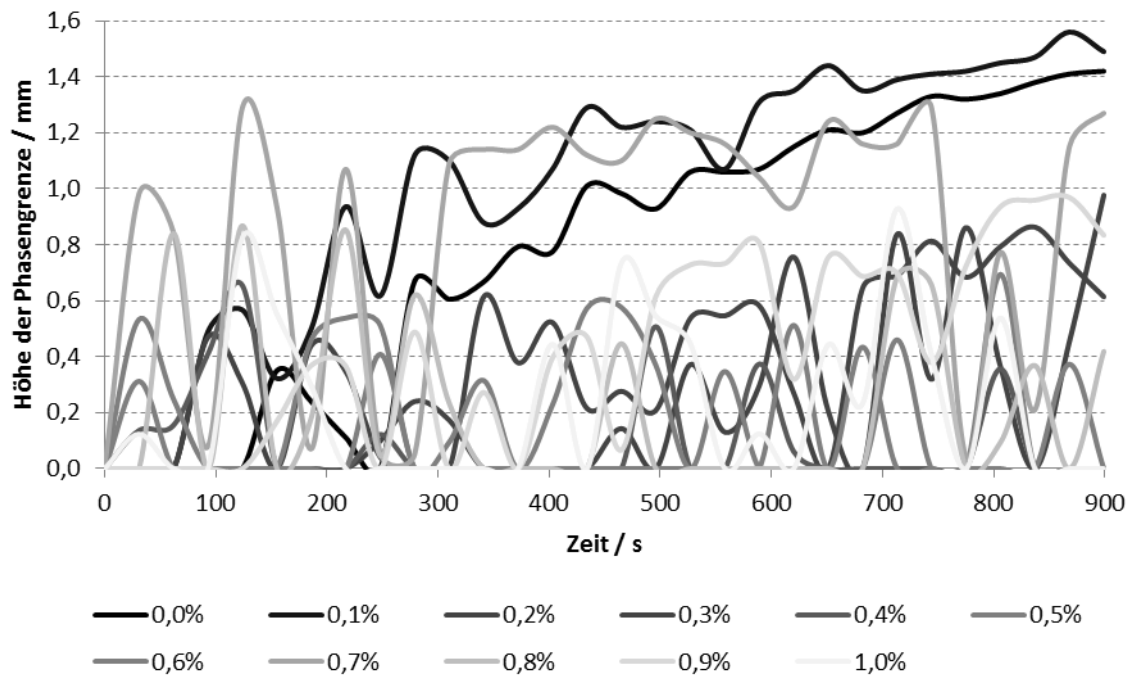


Abbildung 5.7.3: Wanderung der Phasengrenze in Emulsionen, denen Carbomer unterschiedlicher Konzentration zugesetzt wurde

Anhand dieser Abbildung ist eine Beurteilung des Einflusses der Carbomerkonzentration auf das Aufrahmen der Emulsionen schwer zu beurteilen. Zu sehen ist aber, dass die Emulsionen mit nur wenig Carbomer (dunkle Linien) eine etwas höhere Phasengrenze zeigen, die auch eine eindeutige Tendenz hat, sich nach oben zu bewegen. Bei höheren Carbomerkonzentrationen ist nur noch ein Rauschen zu erkennen. Diese Beobachtung spricht bereits dafür, dass der Zusatz von Carbomer das Aufrahmen der Emulsionen deutlich verlangsamt. Da aber noch nicht festgestellt werden konnte, ab welcher Carbomerkonzentration der stabilisierende Effekt als ausreichend erachtet werden kann, wurden die Emulsionen nach 5 Tagen erneut vermessen und anhand dieser Messungen wurde der TSI über 50 mm Küvettenhöhe ausgewertet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.7.4 dargestellt.

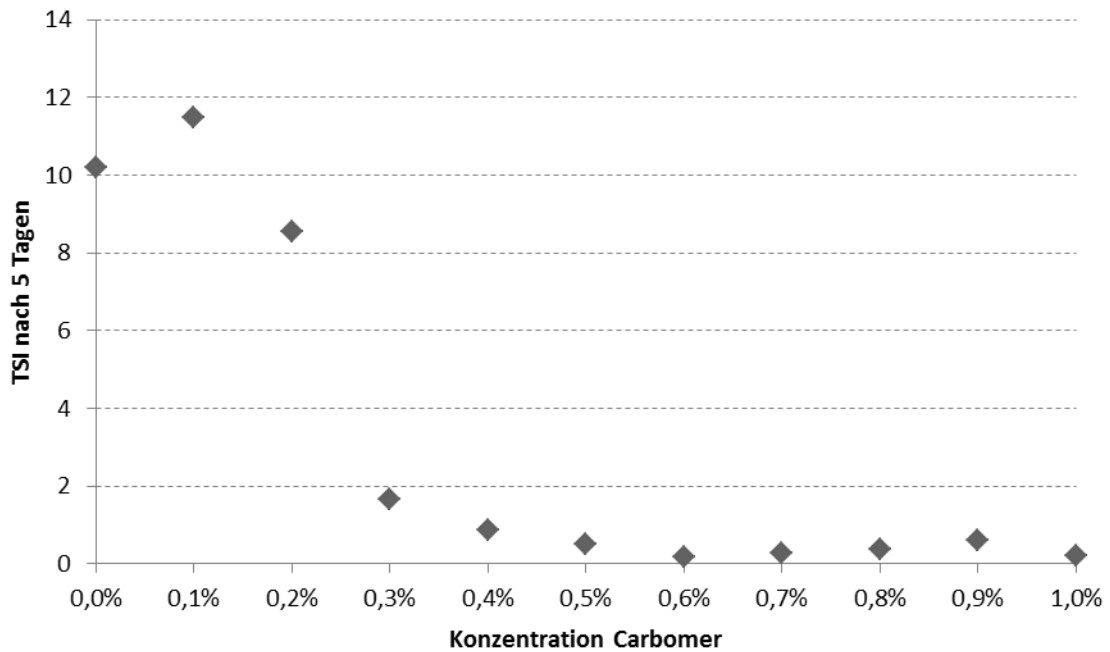


Abbildung 5.7.4: Beeinflussung des TSI nach 5 Tagen durch den Zusatz von Carbomer in verschiedenen Konzentrationen ($n = 1$)

Es ist deutlich zu sehen, dass bereits ein 0,3%iger Carbomerzusatz die Stabilität der Emulsionen stark erhöht (deutlich erniedrigter TSI). Ab 0,6% Carbomerzusatz sind nach 5 Tagen keine erheblichen Unterschiede mehr zwischen den höheren Konzentrationen zu sehen.

Es kann also festgestellt werden, dass durch den Zusatz von Carbomer (und Anpassung des pH-Wertes mittels Trometamol) die Stabilität der Emulsionen auch bei niedrigerer Polysaccharidkonzentration deutlich erhöht werden kann. Es ist daher möglich, je nach Anforderungen an die Rezeptur sowohl mit geringer als auch mit hoher Extraktmenge stabile Emulsionen zu produzieren.

5.8 Verwendung unterschiedlicher Algenchargen

Wie bereits in Kapitel 2.3 erwähnt wurde, hat der Zeitpunkt und Ort der Ernte einen deutlichen Einfluss auf die Zusammensetzung der Polysaccharide im Algenmaterial. Daher wurden vergleichende Versuche an vier unterschiedlichen Algenchargen bzw. den aus ihnen extrahierten, ausgefällten und gefriergetrockneten Polysacchariden durchgeführt. Da erwartet wurde, dass sich die Unterschiede vor allem in Eigenschaften widerspiegeln, die für die Stabilisierung von Emulsionen relevant sind, wurden die Oberflächenspannung und die Viskosität der jeweiligen Polysaccharidlösungen verschiedener Konzentrationen untersucht. Zusätzlich wurden Emulsionen hergestellt, in denen die primäre Tröpfchengröße und die Emulsionsstabilität gemessen wurden. Verglichen wurden hier getrocknete Polysaccharide aus einer Charge des Extraktes von CRM und getrocknete Polysaccharide aus den in Kapitel 3 aufgeführten Chargen *Ascophyllum nodosum* (fein gemahlen), die wie in Kapitel 5.5 ermittelt, extrahiert wurden. In Abbildung 5.8.1 erfolgt nun zunächst die Darstellung der dynamischen Viskosität dieser Polysaccharidlösungen (bestimmt mit dem Vibro-Viskosimeter laut Kapitel 4.3.4).

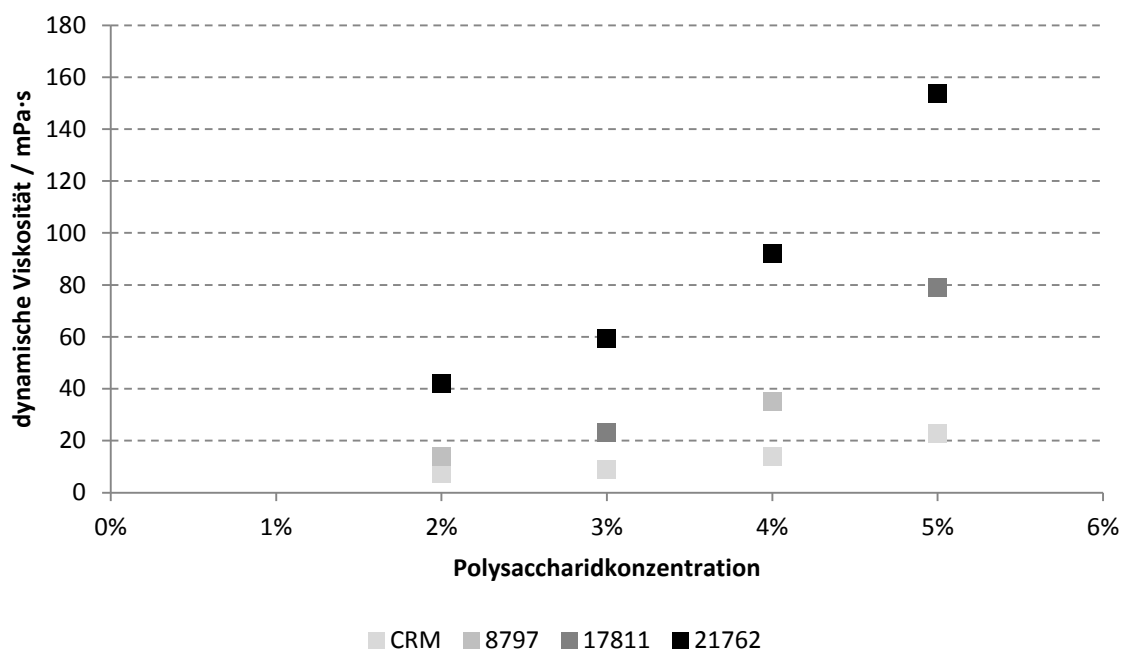


Abbildung 5.8.1: Dynamische Viskosität der Polysaccharidlösungen aus Algenmaterial unterschiedlicher Chargen ($n = 1$)

Die Unterschiede zwischen den Chargen sind mit einer Differenz von etwa 130 mPa·s zwischen der am höchsten und der am niedrigsten viskosen Lösung bei 5%igen Lösungen als gravierend zu bewerten. Es ist offenkundig, dass durch solche Unterschiede die Stabilität der Emulsionen stark beeinflusst wird. Schon dieses Ergebnis zeigt, dass eine Standardisierung der Extrakte bzw. eine nähere Untersuchung des Ausgangsmaterials zur reproduzierbaren Herstellung von Emulsionen gleichbleibender hoher Qualität unabdingbar ist.

Auch die Oberflächenspannung der wässrigen Lösungen unterscheidet sich, je nachdem aus welcher Charge des Algenmaterials die Polysaccharide extrahiert wurden. Dies ist in Abbildung 5.8.2 dargestellt. Es sind zwar Unterschiede zwischen den Chargen zu sehen, da aber insgesamt die Oberflächenspannung mit einem Minimum von 40 mN/m² nicht sehr stark gesenkt wird, fallen auch die Unterschiede zwischen den Chargen nicht so stark ins Gewicht.

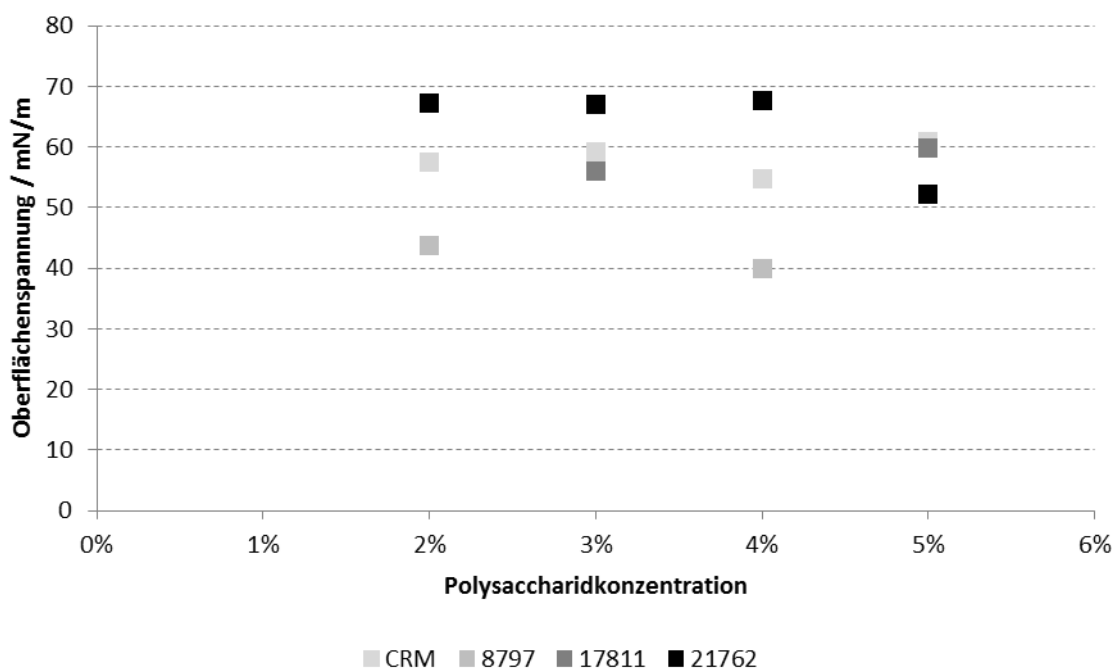


Abbildung 5.8.2: Oberflächenspannung der Polysaccharidlösungen aus Algenmaterial unterschiedlicher Chargen (n = 1)

Aus den unterschiedlichen Chargen wurden auch Emulsionen mit 15% mittelkettigen Triglyceriden bei 130 bar über 4 Zyklen hergestellt, deren Stabilität im Turbiscan™ über 20 Minuten bestimmt wurde. Dabei war von der Charge 8797

nicht mehr ausreichend Material vorhanden, sodass nur drei Emulsionen miteinander verglichen werden konnten. Die Tröpfchengröße in den Emulsionen direkt nach der Homogenisierung und auch der TSI nach der 20minütigen Messung ist in Abbildung 5.8.3 dargestellt:

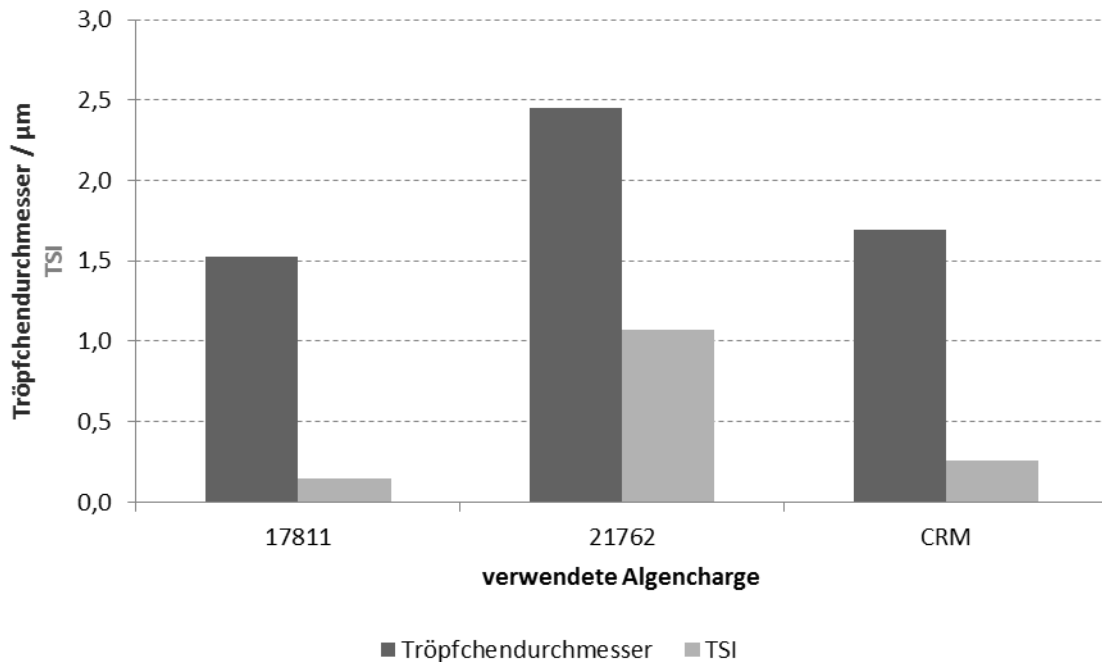


Abbildung 5.8.3: Tröpfchendurchmesser und TSI von Emulsionen aus unterschiedlichen Chargen des Algenmaterials ($n = 1$)

Es handelt sich um Einfachbestimmungen, doch nach den bisher gemachten Erfahrungen bezüglich der Reproduzierbarkeit ist zumindest der Unterschied zwischen den Chargen 17811 ($1,5 \mu\text{m}$) und 21762 ($2,4 \mu\text{m}$) auch ohne Mehrfachbestimmungen als gesichert zu betrachten. Diese Unterschiede äußern sich auch bereits nach 20 Minuten im TSI in der Art, dass der TSI der Charge 21762 deutlich größer ist als derjenige, der anderen beiden Chargen. Die Emulsionen weisen eine geringere Stabilität auf. Die Charge 21762 ist auch diejenige, die die höchste Oberflächenspannung der Polysaccharidlösung und auch die höchste Viskosität dieser Lösung zeigte. Beides kann die geringere Stabilität der Emulsionen erklären: durch die höhere Oberflächenspannung der äußeren Phase ist die Bildung kleiner Tröpfchen erschwert und während eine hohe Viskosität der

äußeren Phase in Emulsionen die Stabilität zwar erhöht, wird so auch die primäre Bildung kleiner Tröpfchen erschwert.

Als Fazit dieser Untersuchungen bleibt, dass das verwendete Algenmaterial die Stabilität der Emulsionen signifikant beeinflusst. Es gibt viele mögliche Gründe, auf die diese Unterschiede zurückgeführt werden könnten, angefangen bei dem Verhältnis der verschiedenen Polysaccharide zueinander, der Polymerlänge, bis hin zu der individuellen Zusammensetzung der Polysaccharide aus den Monomeren bezüglich der Abfolge im Molekül und der Stöchiometrie. Es wäre sicherlich sehr interessant, einen Zusammenhang zwischen diesen Charakteristika der Polysaccharide und der Stabilität der aus ihnen hergestellten Emulsionen zu untersuchen, würde jedoch den Rahmen dieser Arbeit sprengen, da die Zielsetzung sich zunächst auf die generelle Eignung der Polysaccharide zur Stabilisierung der Emulsionen bezieht.

Nach den Beobachtungen aus Kapitel 5.7.3 darf jedoch erwartet werden, dass mit Hilfe einer Gelierung der Emulsionen durch Carbomer und Trometamol auch zunächst weniger stabile Emulsionen chargenunabhängig weiter stabilisiert werden können.

5.9 Variation der lipophilen Phase

Da in den vorangegangenen Untersuchungen nur mittelkettige Triglyceride als lipophile Phase eingesetzt wurden, wurde nun untersucht, wie gut andere lipophile Flüssigkeiten durch die Polysaccharidmischung aus *Ascophyllum nodosum* emulgiert werden können. Zur Beurteilung wurden die aus Kapitel 5.5 bekannten Markeremulsionen mit einer 3%igen Polysaccharidlösung (konserviert mit 2% Benzylalkohol) hergestellt und die Tröpfchengröße bestimmt. Wie dort bereits beschrieben, gilt auch hier, dass die Stabilisierungseigenschaften für die betreffende Flüssigkeit als umso höher eingeschätzt werden können, je kleiner die erzielten Tröpfchen sind und je näher die Tröpfchengrößen der unterschiedlichen Emulsionen beieinander liegen.

Variation der lipophilen Phase

Für diese Untersuchungen wurden erneut mittelkettige Triglyceride zum Vergleich verwendet. Zusätzlich wurden mit flüssigem Paraffin (unverzweigte Kohlenwasserstoffe) und Oleyloleat (flüssiges Wachs) zwei weitere chemisch möglichst unterschiedliche lipophile Flüssigkeiten verwendet. Außerdem wurde mit den hochviskosen Triglyceriden eine chemisch den mittelkettigen Triglyceriden ähnliche Flüssigkeit, die allerdings eine vergleichsweise hohe Dichte ($1,005 \text{ g/cm}^3$ laut eigener Messung) hat, verwendet. Die Tröpfchengrößen der Markeremulsionen sind in Abbildung 5.9.1 dargestellt.

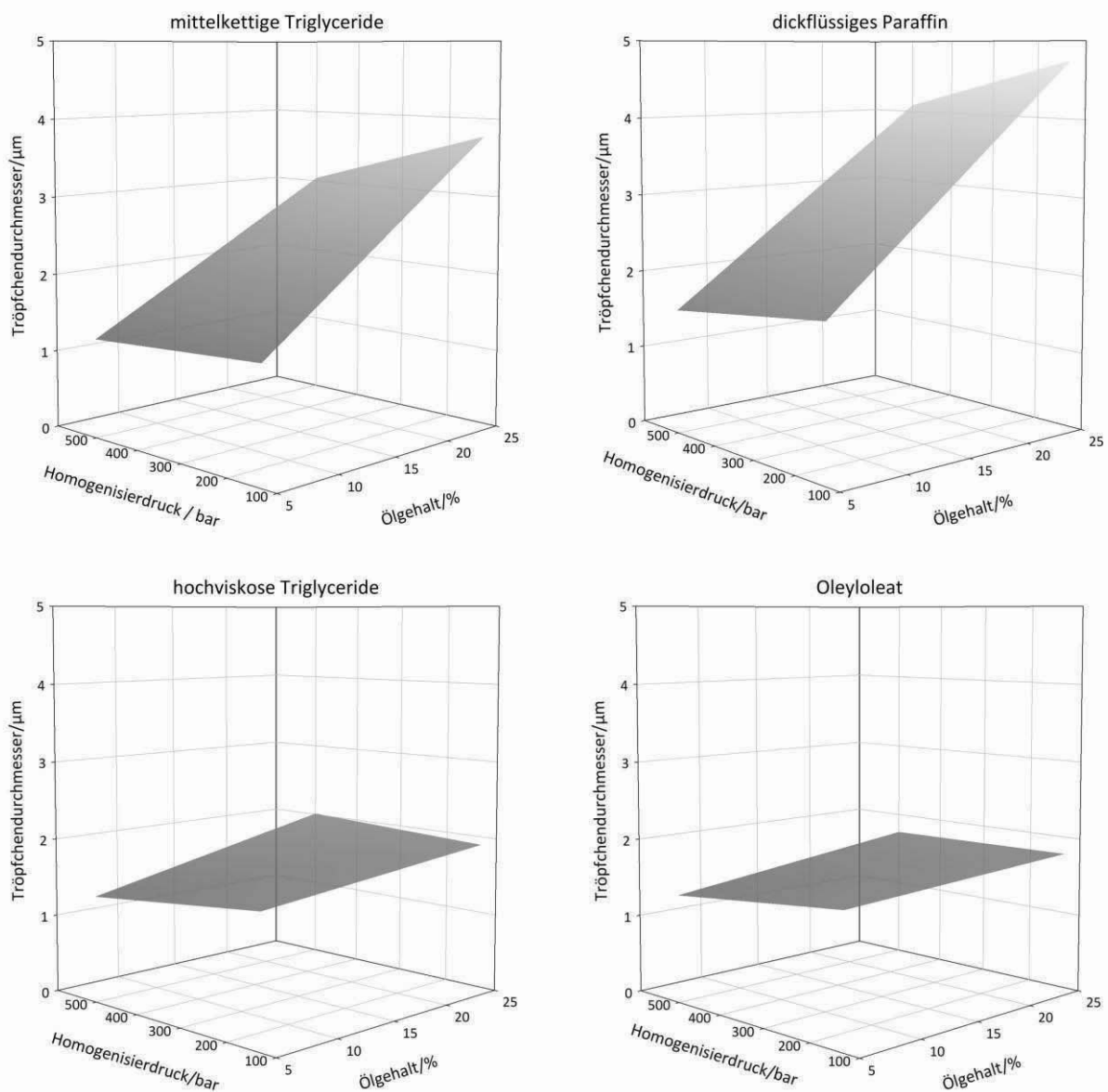


Abbildung 5.9.1: Markeremulsionen aus einer 3%igen Polysaccharidlösung mit mittelkettigen Triglyceriden (oben links), dickflüssigem Paraffin (oben rechts), hochviskosen Triglyceriden (unten links) und Oleyloleat (unten rechts)

Innerhalb dieses Vergleiches fällt sehr deutlich auf, dass die mit Oleyloleat hergestellten Emulsionen wesentlich kleinere Tröpfchen beinhalten als diejenigen, die mit mittelkettigen Triglyceriden hergestellt wurden. Auch der Unterschied zwischen 5% und 25% Ölgehalt bzw. der Homogenisierung bei 130 und 500 bar ist bei der Verwendung von Oleyloleat deutlich geringer ausgeprägt, als bei den bisher untersuchten Emulsionen. Optisch geben die Emulsionen mit Oleyloleat ebenfalls ein sehr gleichmäßiges Bild ab. Ähnliches zeigt sich bei der Verwendung der hochviskosen Triglyceride. Aufgrund der höheren Dichte ist hier allerdings kein Aufrahmen, sondern Sedimentation zu beobachten. Paraffin hingegen zeigt in diesen Untersuchungen keine nennenswerten Unterschiede zu den mittelkettigen Triglyceriden, ist also im Hinblick auf die Eignung weder als vorteilig noch als nachteilig zu bewerten.

Diese Untersuchungen bestätigen, dass sich nicht nur Emulsionen mit mittelkettigen Triglyceriden durch die Polysaccharide aus *Ascophyllum nodosum* stabilisieren lassen, sondern auch andere Substanzen als lipophile Phase verwendet werden können. Da damit die Fragestellung nach der generellen Eignung dieser Polysaccharide eindeutig beantwortet werden kann, wurde auf weitergehende Untersuchungen verzichtet.

5.10 Fazit

Die Optimierung einer konkreten Formulierung zur kosmetischen Anwendung würde sich aufgrund der vielen Einflussfaktoren zwar als komplexe Aufgabenstellung erweisen, jedoch konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass solche Untersuchungen auch eine hohe Aussicht auf Erfolg haben. Die Optimierung müsste die Schwankungen des natürlichen Ausgangsmaterials berücksichtigen – es muss also entweder eine Standardisierung der Extrakte erfolgen, oder die Optimierung von Rezeptur und Prozess wäre für jede Algencharge neu erforderlich. Im Anschluss kann dann die Zusammensetzung der Emulsionen betrachtet werden. Je nach Anforderungen und gewünschten beziehungsweise

unerwünschten Zusatzstoffen, können die Polysaccharide alleine zur Stabilisierung genutzt werden, eine prozessunabhängige Möglichkeit wäre aber auch, die Emulsionen beispielsweise durch den Zusatz von Carbomer zusätzlich zu stabilisieren. Für die Herstellung der Emulsionen ist das in dieser Arbeit angewendete Vorgehen aus einer Vorhomogenisierung mit einem Rotor-Stator-System und der eigentlichen Homogenisierung im Hochdruckhomogenisator sehr gut geeignet. Die genauen Parameter der Homogenisierung sollten im Rahmen der Entwicklung konkreter Rezepturen Berücksichtigung finden, wobei der Homogenisierdruck nicht zu hoch gewählt werden sollte. Insgesamt ist allerdings die Zusammensetzung der Emulsionen kritischer zu untersuchen als die Prozessparameter.

Die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Emulsionen weisen allerdings alle eine deutliche Braunfärbung und einen charakteristischen Algengeruch auf. Dies kann einerseits als Zeichen für die Natürlichkeit dieser Emulsionen betrachtet werden, es könnte aber (gerade im Hinblick auf die Akzeptanz beim Konsumenten) durchaus lohnenswert sein, diese Auffälligkeiten durch weitere Aufreinigungsschritte im Extraktionsprozess zu vermindern.

6 Zusammenfassung

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine Stabilisierung von Emulsionen mit polysaccharidhaltigen Extrakten aus *Ascophyllum nodosum* möglich ist. Die Extrakte können dabei auf einfache Weise im wässrigen System hergestellt werden und eine Aufreinigung mittels mechanischer Trennung durch Filtration und Zentrifugation sowie eine Ausfällung der Polysaccharide durch Ethanol ist ausreichend. Für eine hohe Ausbeute bietet es sich an, möglichst fein gepulvertes Algenmaterial zu verwenden und das Pflanze – Menstruum - Verhältnis möglichst klein zu halten (in dieser Arbeit ein Teil Alge mit fünf Teilen Wasser). In genügend hoher Konzentration sind die so gewonnenen Polysaccharide dazu geeignet, einfache Emulsionen aus mittelkettigen Triglyceriden und Wasser alleine zu stabilisieren. Zur Herstellung bietet es sich dabei an, zunächst eine standardisierte Vorhomogenisierung zum Beispiel mit einem Rotor-Stator-System durchzuführen und eine Hochdruckhomogenisierung anzuschließen. Der Druck im Hochdruckhomogenisator sollte dabei allerdings nicht zu hoch gewählt werden, da dies auch destabilisierend auf die Emulsionen wirken könnte. Es ist weiterhin möglich, die benötigte Polysaccharidkonzentration zu senken, indem die Emulsionen zusätzlich mit Carbomer stabilisiert werden. Insgesamt kann also neben der kosmetischen und pharmakologischen Wirksamkeit auch das technologische Potential dieser Substanzen ausgenutzt werden. Die Emulgierfähigkeit ist dabei nicht auf die mittelkettigen Triglyceride beschränkt, da gezeigt werden konnte, dass sich mit Paraffin vergleichbare Ergebnisse erzielen lassen und mit Oleyloleat oder hochviskosen Triglyceriden sogar noch kleinere Tröpfchen erzielt werden konnten.

Eine weitere Aufreinigung der Extrakte ist zur Emulsionsstabilisierung nicht nötig, allerdings könnte es möglich sein, den charakteristischen Geruch der Algen durch weitere Reinigungsschritte zu reduzieren, sowie die bräunliche Färbung zu minimieren, um die Akzeptanz für eine kosmetische Anwendung zu erhöhen.

7 Abstract (english version)

It could be demonstrated within this thesis that emulsions can be stabilised with extracts containing polysaccharides from *Ascophyllum nodosum*. Extracts can be produced using standard extraction technology. Purification can be performed mechanically by filtration and centrifugation, and the polysaccharides can be precipitated by the addition of ethanol. To enhance the yield the used raw alga should be pulverised and the alga-menstruum ratio should be set as low as possible (within this work 1 part of alga plus 5 parts of water). The obtained polysaccharides can stabilise simple emulsions containing medium-chained triglycerides and water as long as their concentration is high enough. For preparation of the emulsions a standardised pre-homogenisation step using for example a rotor-stator-system should be performed followed by a high-pressure-homogenisation. The pressure should not be set too high, as this may cause destabilisation of the emulsions.

It is also possible to lower the needed amount of polysaccharides with the use of additional carbomer to enhance the stability of the emulsions. Thus, the technological potency of the polysaccharides can be used in addition to cosmetic and pharmacological properties. The emulsification is not restricted to medium-chained triglycerides, as it could be shown that also emulsions containing paraffin lead to similar results, whereas the use of oleyl oleat or high viscous triglycerides even leads to smaller droplets within the final formulation.

Further purification of the extracts is not necessary for stabilisation of emulsions, but eventually the characteristic smell of the algae and the brownish colour could be reduced by additional purification steps.

8 Anhang

8.1 ANOVA aus Abschnitt 5.6

Tabelle 8.1.1: ANOVA der Tröpfchengröße nach der Vorhomogenisierung

Response 1		d UT / μm				
Transform: Square Root		Constant: 0				
ANOVA for Response Surface Quadratic Model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	26,3067	5	5,2613	964,3665	< 0,0001	significant
A-Geschwindigkeit	23,3745	1	23,3745	4284,3824	< 0,0001	
B-Zeit	1,4927	1	1,4927	273,5993	< 0,0001	
AB	0,3184	1	0,3184	58,3642	< 0,0001	
A ²	3,8832	1	3,8832	711,7579	< 0,0001	
B ²	0,1348	1	0,1348	24,7107	0,0006	
Residual	0,0546	10	0,0055			
Lack of Fit	0,0456	3	0,0152	11,8062	0,004	significant
Pure Error	0,0090	7	0,0013			
Cor Total	26,3613	15				

Tabelle 8.1.2: ANOVA der Tröpfchengröße nach der Hochdruckhomogenisierung

Response 2		d HDH / μm				
ANOVA for Response Surface Quadratic Model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	0,0023	5	0,0005	0,7729	0,5905	not significant
A-Geschwindigkeit	0,0008	1	0,0008	1,3976	0,2645	
B-Zeit	0,0004	1	0,0004	0,6181	0,45	
AB	0,0003	1	0,0003	0,5350	0,4813	
A ²	0,0000	1	0,0000	0,0581	0,8143	
B ²	0,0009	1	0,0009	1,5738	0,2382	
Residual	0,0060	10	0,0006			
Lack of Fit	0,0021	3	0,0007	1,2461	0,3633	not significant
Pure Error	0,0039	7	0,0006			
Cor Total	0,0083	15				

Anhang

Tabelle 8.1.3: ANOVA des TSI nach 28 Tagen in Abhängigkeit von Zusammensetzung und Homogenisierdruck

Response	2	TSI 28 Tage				
Transform:	Square Root	Constant: 0				
ANOVA for Combined Quadratic x Quadratic Model						
*** Mixture Component Coding is L_Pseudo, ***						
Mixture	Components	A	B	C		
Process	Factors	D				
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	22,4383	17	1,3199	43,4692	< 0,0001	significant
Linear Mixture	12,7323	2	6,3662	209,6618	< 0,0001	
AB	0,0698	1	0,0698	2,3004	0,1533	
AC	0,0291	1	0,0291	0,9584	0,3454	
AD	0,2670	1	0,2670	8,7935	0,0109	
BC	0,1415	1	0,1415	4,6614	0,0501	
BD	0,6622	1	0,6622	21,8103	0,0004	
CD	0,0279	1	0,0279	0,9201	0,3549	
ABD	0,4031	1	0,4031	13,2757	0,003	
ACD	0,0543	1	0,0543	1,7872	0,2042	
BCD	0,0088	1	0,0088	0,2910	0,5987	
AD²	0,1016	1	0,1016	3,3452	0,0904	
BD²	0,1166	1	0,1166	3,8396	0,0719	
CD²	0,0007	1	0,0007	0,0225	0,8831	
ABD²	0,0021	1	0,0021	0,0679	0,7984	
ACD²	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,9964	
BCD²	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,9951	
Residual	0,3947	13	0,0304			
Lack of Fit	0,2486	8	0,0311	1,0636	0,4959	not significant
Pure Error	0,1461	5	0,0292			
Cor Total	22,8330	30				

Tabelle 8.1.4: ANOVA des TSI nach 120 Tagen in Abhängigkeit von Zusammensetzung und Homogenisierdruck

Response	3		TSI 120 Tage			
ANOVA for Combined Quadratic x Quadratic Model						
*** Mixture Component Coding is L_Pseudo, ***						
Mixture	Components	A B C				
Process	Factors	D				
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	3249,8274	17	191,1663	114,9720	< 0,0001	significant
Linear Mixture	2256,7501	2	1128,3751	678,6316	< 0,0001	
AB	2,6132	1	2,6132	1,5716	0,2320	
AC	23,7615	1	23,7615	14,2908	0,0023	
AD	27,5443	1	27,5443	16,5658	0,0013	
BC	48,3085	1	48,3085	29,0539	0,0001	
BD	97,2954	1	97,2954	58,5158	< 0,0001	
CD	3,6506	1	3,6506	2,1956	0,1622	
ABD	33,3485	1	33,3485	20,0566	0,0006	
ACD	4,9734	1	4,9734	2,9911	0,1074	
BCD	0,9589	1	0,9589	0,5767	0,4611	
AD²	11,7561	1	11,7561	7,0704	0,0197	
BD²	7,5893	1	7,5893	4,5644	0,0522	
CD²	3,5662	1	3,5662	2,1448	0,1668	
ABD²	0,0327	1	0,0327	0,0197	0,8906	
ACD²	3,3849	1	3,3849	2,0357	0,1772	
BCD²	2,6607	1	2,6607	1,6002	0,2281	
Residual	21,6154	13	1,6627			
Lack of Fit	7,0464	8	0,8808	0,3023	0,9351	not significant
Pure Error	14,5690	5	2,9138			
Cor Total	3271,4428	30				

Anhang

Tabelle 8.1.5: ANOVA der Tröpfchengröße in Abhängigkeit von Homogenisierdruck und Tröpfchengröße

Response	1	d / μm				
ANOVA for Combined Quadratic x Quadratic Model						
*** Mixture Component Coding is L_Pseudo, ***						
Mixture	Components	A	B	C		
Process	Factors	D				
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	2,1611	17	0,1271	81,4944	< 0,0001	significant
Linear Mixture	2,0900	2	1,0450	669,9341	< 0,0001	
AB	0,0004	1	0,0004	0,2714	0,6111	
AC	0,0004	1	0,0004	0,2543	0,6225	
AD	0,0000	1	0,0000	0,0001	0,9942	
BC	0,0001	1	0,0001	0,0351	0,8543	
BD	0,0022	1	0,0022	1,4214	0,2545	
CD	0,0004	1	0,0004	0,2281	0,6409	
ABD	0,0000	1	0,0000	0,0019	0,9657	
ACD	0,0001	1	0,0001	0,0773	0,7854	
BCD	0,0005	1	0,0005	0,3019	0,5920	
AD²	0,0125	1	0,0125	8,0453	0,0140	
BD²	0,0087	1	0,0087	5,5500	0,0348	
CD²	0,0115	1	0,0115	7,3751	0,0177	
ABD²	0,0036	1	0,0036	2,2849	0,1546	
ACD²	0,0134	1	0,0134	8,6023	0,0116	
BCD²	0,0095	1	0,0095	6,0694	0,0285	
Residual	0,0203	13	0,0016			
Lack of Fit	0,0161	8	0,0020	2,3840	0,1768	not significant
Pure Error	0,0042	5	0,0008			
Cor Total	2,1814	30				

8.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1.1: Instabilitätserscheinungen in Emulsionen	5
Abbildung 2.1.2: Abhängigkeit der Potenzialenergie vom Teilchenabstand entsprechend der DLVO-Theorie, modifiziert nach [10]	7
Abbildung 2.2.1: Möglichkeiten der Adsorption von Polymeren an Feststoffen modifiziert nach {Sato 1980 #194}; Erläuterungen siehe Text	10
Abbildung 2.2.2: Struktur eines PEO-PPO-PEO-Blockcopolymeres	10
Abbildung 2.2.3: Struktur von Inulincarbamat nach {Stevens 2001 #192}	11
Abbildung 2.2.4: mögliche Teilstruktur von Hypromellose, Erläuterungen siehe Text	12
Abbildung 2.3.1: Struktur eines Oligosaccharides aus Fucoidan	15
Abbildung 2.3.2: Heteropolymerer Ausschnitt von Alginat	17
Abbildung 2.3.3: Das Eierkarton-Modell, das die Gelierung von Calciumalginat beschreibt (modifiziert nach {Grant 1973 #211})	18
Abbildung 4.4.1: Funktionsprinzip eines Ring-Spalt-Homogenisators	25
Abbildung 4.5.1: Messkopf des Turbiscan™	27
Abbildung 4.5.2: Darstellung von Aufrahmung (links) und Koaleszenz oder Flockung (rechts) im Turbiscan™	28
Abbildung 5.1.1: Emulsionen aus hochkonzentrierten Polysaccharidlösungen verschiedener Algen, 500fache Vergrößerung, Maßstab 50 µm	34
Abbildung 5.1.2: Turbiscan™-Diagramme der Emulsionen mit 50% mittelkettigen Triglyceriden aus verschiedenen ungetrockneten Algenextrakten, hergestellt von CRM	36
Abbildung 5.2.1: Veränderung der Tröpfchengröße mit Erhöhung des Homogenisierdruckes und steigender Anzahl der Zyklen (n = 1)	38
Abbildung 5.2.2: Einfluss des Homogenisierdruckes auf die Tröpfchengröße in Abhängigkeit vom Ölgehalt (n = 1)	39
Abbildung 5.3.1: Abhängigkeit der Emulsionsstabilität und der Tröpfchengröße vom Ölgehalt der Emulsionen (n = 1)	41

Abbildung 5.3.2: Einfluss des Zusatzes an Trockenextrakt auf die Stabilität der Emulsionen	42
Abbildung 5.3.3: Veränderung von Viskosität und Oberflächenspannung der Extrakte mit unterschiedlichem Trockengehalt und resultierender Tröpfchengröße der Emulsionen (n = 1)	43
Abbildung 5.4.1: Einfluss von Homogenisierdruck und Ölgehalt auf den Tröpfchendurchmesser der Emulsionen	44
Abbildung 5.5.1: Vergleich des aus unterschiedlichen Siebfractionen des Algenmaterials extrahierten Polysaccharidgehaltes (n = 1)	47
Abbildung 5.5.2: Vergleich der Markeremulsionen aus den unterschiedlichen Siebfractionen im Hinblick auf ihre Tröpfchengröße	48
Abbildung 5.5.3: Vergleich der Markeremulsionen für zerkleinertes und gesiebtetes Drogenmaterial	50
Abbildung 5.5.4: Tröpfchengröße der Markeremulsionen bei Verwendung von feinem und grobem Algenmaterial mit Wasser unterschiedlicher Temperaturen.....	51
Abbildung 5.5.5: Vergleich von grobem und feinem Algenmaterial und der Extraktion mit heißem und auf Raumtemperatur abgekühltem Wasser (n = 1)	52
Abbildung 5.5.6: Stabilität der Markeremulsionen aus feiner Droge mit heißem Wasser nach 250 Tagen	53
Abbildung 5.5.7: Polysaccharidgehalt in Abhängigkeit vom Verhältnis zwischen Extraktionsmittel und Alge (n = 3; Fehlerbalken = Standardabweichung).....	55
Abbildung 5.5.8: Markeremulsionen aus den Extrakten, die mit einem unterschiedlichen Verhältnis zwischen Droge und Extraktionsmittel hergestellt wurden	56
Abbildung 5.5.9: Polysaccharidgehalt im zeitlichen Verlauf (n = 6; Fehlerbalken = Standardabweichung).....	57
Abbildung 5.6.1: Faktorkombinationen des statistischen Versuchsplanes zur Untersuchung der Vorhomogenisierung.....	59

Abbildung 5.6.2: Verteilung des Standard Error of Design über die gewählten Designpunkte.....	60
Abbildung 5.6.3: Verteilung der Residuen im Wahrscheinlichkeitsnetz: durch Ziehen der Quadratwurzel transformierte Daten (links) und untransformierte Daten (rechts).....	61
Abbildung 5.6.4: Darstellung der geschätzten und gemessenen Werte für die Tröpfchengröße nach der Vorhomogenisierung.....	62
Abbildung 5.6.5: Abhängigkeit der Tröpfchengröße nach der Vorhomogenisierung von Geschwindigkeit und Dauer der Vorhomogenisierung.....	63
Abbildung 5.6.6: Darstellung der vorhergesagten und tatsächlichen Werte für die Tröpfchengröße nach der Hochdruckhomogenisierung.....	64
Abbildung 5.6.7: Tröpfchengröße der Emulsionen nach der Hochdruckhomogenisierung in Abhängigkeit von den Parametern der Vorhomogenisierung (nicht signifikantes Modell).....	65
Abbildung 5.6.8: Extrembedingungen der Vorhomogenisierung über den gesamten Druckbereich des Hochdruckhomogenisators (n = 2; Fehlerbalken = Standardabweichung).....	66
Abbildung 5.6.9: Faktorkombinationen zur Untersuchung des Einflusses von Homogenisierdruck und Zusammensetzung auf die Stabilität der Emulsionen.....	68
Abbildung 5.6.10: Verteilung des Standardfehlers zur Untersuchung des Einflusses von Homogenisierdruck und Zusammensetzung auf die Stabilität der Emulsionen bei einem Polysaccharidgehalt von 3,5%.....	69
Abbildung 5.6.11: Berechnete und gemessene Werte für den TSI nach 28 (links) bzw. 120 Tagen (rechts).....	70
Abbildung 5.6.12: Gegenüberstellung der gemessenen und durch das Modell berechneten Tröpfchendurchmesser.....	71
Abbildung 5.6.13: Turbiscan Stabilitätsindex nach 28 Tagen (oben) und 120 Tagen (unten) bei einem Polysaccharidgehalt von 2%	72

Abbildung 5.6.14: Tröpfchengröße der Emulsionen mit 2% Polysaccharidgehalt direkt nach der Hochdruckhomogenisierung	73
Abbildung 5.6.15: Turbiscan Stabilitätsindex nach 28 Tagen (oben) und 120 Tagen (unten) bei einem Polysaccharidgehalt von 3,5%	75
Abbildung 5.6.16: Tröpfchengröße der Emulsionen mit 3,5% Polysaccharidgehalt direkt nach der Hochdruckhomogenisierung	76
Abbildung 5.6.17: Turbiscan Stabilitätsindex nach 28 Tagen (oben) und 120 Tagen (unten) bei einem Polysaccharidgehalt von 5%	77
Abbildung 5.6.18: Tröpfchengröße der Emulsionen mit 5% Polysaccharidgehalt direkt nach der Hochdruckhomogenisierung	78
Abbildung 5.6.19: Fließkurven von unterschiedlich konzentrierten wässrigen Polysaccharidlösungen (n = 1)	79
Abbildung 5.6.20: Viskosität wässriger Polysaccharidlösungen (n = 3; Fehlerbalken = Standardabweichung).....	80
Abbildung 5.6.21: Einfluss des Tröpfchendurchmessers nach der Homogenisierung auf den TSI nach 120 Tagen.....	81
Abbildung 5.6.22: Einfluss der Viskosität der äußeren Phase auf den TSI nach 120 Tagen	82
Abbildung 5.6.23: Beeinflussung des TSI nach 120 Tagen durch den Quotienten aus dem quadrierten Tröpfchenradius und der Viskosität	83
Abbildung 5.6.24: Zusammenhang zwischen dem Homogenisierdruck und dem TSI nach 120 Tagen.....	84
Abbildung 5.6.25: Beeinflussung des TSI nach 120 Tagen durch den Gehalt der Einzelkomponenten.....	85
Abbildung 5.6.26: Beeinflussung des TSI nach 120 Tagen durch die Relation zwischen Polysaccharidgehalt und Ölgehalt bzw. Wassergehalt.....	86
Abbildung 5.6.27: Beeinflussung der Tröpfchengröße durch die je Öl zur Verfügung stehende Polysaccharidmenge.....	87
Abbildung 5.7.1: Wanderung der Phasengrenze in Emulsionen, denen Salzsäure unterschiedlicher Konzentration zugesetzt wurde	90

Abbildung 5.7.2: Wanderung der Phasengrenze in Emulsionen, denen Calciumchlorid unterschiedlicher Konzentration zugesetzt wurde	91
Abbildung 5.7.3: Wanderung der Phasengrenze in Emulsionen, denen Carbomer unterschiedlicher Konzentration zugesetzt wurde	93
Abbildung 5.7.4: Beeinflussung des TSI nach 5 Tagen durch den Zusatz von Carbomer in verschiedenen Konzentrationen (n = 1).....	94
Abbildung 5.8.1: Dynamische Viskosität der Polysaccharidlösungen aus Algenmaterial unterschiedlicher Chargen (n = 1)	95
Abbildung 5.8.2: Oberflächenspannung der Polysaccharidlösungen aus Algenmaterial unterschiedlicher Chargen (n = 1)	96
Abbildung 5.8.3: Tröpfchendurchmesser und TSI von Emulsionen aus unterschiedlichen Chargen des Algenmaterials (n = 1)	97
Abbildung 5.9.1: Markeremulsionen aus einer 3%igen Polysaccharidlösung mit mittelkettigen Triglyceriden (oben links), dickflüssigem Paraffin (oben rechts), hochviskosen Triglyceriden (unten links) und Oleyloleat (unten rechts).....	99

8.3 Literaturverzeichnis

- [1] Wilhelm, K.-P., Freitag, G., Wolff, H.H. (1994) Surfactant-induced skin irritation and skin repair: Evaluation of the acute human irritation model by noninvasive techniques. *Journal of the American Academy of Dermatology* 30, 944–949.
- [2] Fitton, J.H., Irhimeh, M., Falk, N. (2007) Macroalgal Fucoidan Extracts: A New Opportunity for Marine Cosmetics. *Cosmetics & Toiletries* 8, 55–64.
- [3] Berteau, O., Mulloy, B. (2003) Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. *Glycobiology* 13, 29R.
- [4] (2011) Europäisches Arzneibuch. Allgemeiner Teil Monographiegruppen. Dt. Apotheker-Verl. [u.a.]. Stuttgart.
- [5] (2012) Deutsches Arzneibuch 2012. Deutscher Apotheker Verlag.
- [6] Swarbrick, James; Boylan, James C., Eds (2002-) *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. Marcel Dekker. New York.
- [7] Pickering, S.U. (1907) Emulsions. *J. Chem. Soc., Trans.* 91, 2001.
- [8] Chevalier, Y., Bolzinger, M.-A. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*.
- [9] Robins, M.M. (2000) Emulsions - creaming phenomena. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 5, 265–272.
- [10] Martin, A.N., Leuenberger, H. (2002) *Physikalische Pharmazie. Pharmazeutisch angewandte physikalisch-chemische Grundlagen ; mit 163 Tabellen*. Wiss. Verl.-Ges. Stuttgart.
- [11] Schubert, H., Armbruster, H. (1989) Prinzipien der Herstellung und Stabilität von Emulsionen. *Chemie Ingenieur Technik* 61, 701–711.
- [12] Tadros, T.F. (2013) *Emulsion formation and stability*. Wiley-VCH. Weinheim.
- [13] Neogi, P., Narsimhan, G. (2001) Ostwald ripening of oil drops in a micellar solution. *Chemical Engineering Science* 56, 4225–4231.
- [14] Sato, T., Ruch, R. (1980) *Stabilization of Colloidal Dispersions by Polymer Adsorption*. Marcel Dekker. New York and Basel.
- [15] Tadros, T.F., Vandamme, A., Levecke, B., Booten, K., Stevens, C.V. (2004) Stabilization of emulsions using polymeric surfactants based on inulin. *Emulsions, From Fundamentals to Practical Applications* 108–109, 207–226.
- [16] Stevens, C.V., Meriggi, A., Peristeropoulou, M., Christov, P.P., Booten, K., Levecke, B., Vandamme, A., Pittevels, N., Tadros, T.F. (2001) Polymeric Surfactants Based on Inulin, a Polysaccharide Extracted from Chicory. 1. Synthesis and Interfacial Properties. *Biomacromolecules* 2, 1256–1259.
- [17] Hayakawa, K., Kawaguchi, M., Kato, T. (1997) Protective Colloidal Effects of Hydroxypropyl Methyl Cellulose on the Stability of Silicone Oil Emulsions. *Langmuir* 13, 6069–6073.

- [18] Akiyama, E., Kashimoto, A., Fukuda, K., Hotta, H., Suzuki, T., Kitsuki, T. (2005) Thickening properties and emulsification mechanisms of new derivatives of polysaccharides in aqueous solution. *Journal of Colloid and Interface Science* 282, 448–457.
- [19] Akiyama, E., Kashimoto, A., Hotta, H., Kitsuki, T. (2006) Mechanism of oil-in-water emulsification using a water-soluble amphiphilic polymer and lipophilic surfactant. *Journal of Colloid and Interface Science* 300, 141–148.
- [20] Yang, J.S., Jiang, B., He, W., Xia, Y.M. (2012) Hydrophobically modified alginate for emulsion of oil in water. *Carbohydrate Polymers* 87, 1503–1506.
- [21] Kim, D.-Y., Shin, W.-S. (2009) Roles of fucoidan, an anionic sulfated polysaccharide on BSA-stabilized oil-in-water emulsion. *Macromol. Res.* 17, 128-132
- [22] Kim, D.-Y., Shin, W.-S., Hong, W.-S. (2010) The unique behaviors of biopolymers, BSA and fucoidan, in a model emulsion system under different pH circumstances. *Macromolecular Research* 18, 1103–1108.
- [23] Vacca, D.D., Walsh, R.A. (1954) The antibacterial activity of an extract obtained from *Ascoplbyllum nodosum*. *J. Pharm. Sci.* 43, 24–26.
- [24] Holtkamp, A.D., Kelly, S., Ulber, R., Lang, S. (2009) Fucoidans and fucoidanases—focus on techniques for molecular structure elucidation and modification of marine polysaccharides. *Appl Microbiol Biotechnol* 82, 1–11.
- [25] Chevlot, L., Mulloy, B., Ratiskol, J., Foucault, A., Collic-Jouault, S. (2001) A disaccharide repeat unit is the major structure in fucoidans from two species of brown algae. *Carbohydrate Research* 330, 529–535.
- [26] Ale, M.T., Mikkelsen, J.D., Meyer, A.S. (2011) Important Determinants for Fucoidan Bioactivity: A Critical Review of Structure-Function Relations and Extraction Methods for Fucose-Containing Sulfated Polysaccharides from Brown Seaweeds. *Marine Drugs* 9, 2106–2130.
- [27] Mohwer, T.E. (2009) Fucoidan compositions and methods.
- [28] Deguchi, S., Kato, I., Kobayashi, E., Mizutani, S., Nishiyama, E., Sagawa, H. (2008) Use of fucoidan as effective hair restoring ingredient.
- [29] Johnson, K.W. (2009) Fucoidans for reducing blood coagulation.
- [30] Hahn, T., Lang, S., Ulber, R., Muffler, K. (2012) Novel procedures for the extraction of fucoidan from brown algae. *Process Biochemistry* 47, 1691–1698.
- [31] Craigie, J.S., Morris, E.R., Rees, D.A., Thom, D. (1984) Alginate block structure in phaeophyceae from Nova Scotia: Variation with species, environment and tissue-type. *Carbohydrate Polymers* 4, 237–252.
- [32] Fu, S., Thacker, A., Sperger, D.M., Boni, R.L., Buckner, I.S., Velankar, S., Munson, E.J., Block, L.H. (2011) Relevance of Rheological Properties of Sodium Alginate in Solution to Calcium Alginate Gel Properties. *AAPS PharmSciTech* 12, 453–460.

- [33] Grant, G.T., Morris, E.R., Rees, D.A., Smith, P.J.C., Thom, D. (1973) Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. *FEBS Letters* 32, 195–198.
- [34] Morris, E.R., Rees, D.A., Thom, D., Boyd, J. (1978) Chiroptical and stoichiometric evidence of a specific, primary dimerisation process in alginate gelation. *Carbohydrate Research* 66, 145–154.
- [35] Draget, K.I., Skjåk Bræk, G., Smidsrød, O. (1994) Alginic acid gels: the effect of alginate chemical composition and molecular weight. *Carbohydrate Polymers* 25, 31–38.
- [36] Formulaction Turbiscan Lab Userguide.
- [37] Jafari, S.M., Assadpoor, E., He, Y., Bhandari, B. (2008) Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food Hydrocolloids* 22, 1191–1202.
- [38] Kraber, S. (2004) FAQ - Interpreting Lack of Fit. *Stat-Teaser*, 2.

Danksagung

Mit dem Abschluss dieser Arbeit möchte ich mich bei allen bedanken, die in irgendeiner Form daran beteiligt waren, dass sie entstanden ist.

Vornean steht dabei natürlich mein Doktorvater Prof. Steckel, der mich in den Arbeitskreis aufgenommen hat, mir dieses interessante Thema zur Bearbeitung gab und mir dann anschließend viel Freiraum zur Bearbeitung gegeben, mich aber auch jederzeit mit Rat und Tat unterstützt hat. Ich danke der Firma CRM aus Kiel, vor allem Herrn Dr. Piker und Marion Zenthöfer, die überhaupt den Anstoß zur Bearbeitung gaben und mir für viele Versuche Extrakte zur Verfügung gestellt haben. Schließlich danke ich auch Frau Prof. Karin Schwarz für die Übernahme des zweiten Gutachtens.

Weiterhin danke ich meinen fleißigen und engagierten Wahlpflichtfachstudenten Andrea, Christian, Philipp, Freya, Lea und Veronika, die mit mir so manche Fragestellung untersucht haben, auch wenn nicht alles seinen Weg in die endgültige Arbeit finden konnte. Ihr habt viele interessante Dinge herausgefunden! Auch Thea hat mir in ihrer Hiwinenzeit schon so manche Emulsion hergestellt – danke Dir!

Aber nicht nur die Studierenden, auch unsere TAs Anna und Maren haben den Algenduft genießen dürfen und mir bei meinen Untersuchungen so einige Zeit erspart – vielen Dank dafür.

Und auch die anderen „technischen“ Engel diverser Sparten haben mich in vielfältiger Weise unterstützt – einen herzlichen Dank an Kalle, Dirk, Rüdi, Detlef, Arne, Volkmar, Regina, Hanna, Simone, Suse, Rebecca und Denissa – Ihr hattet immer ein offenes Ohr für Fragen und Probleme jeglicher Art und habt viele kleinere und größere, alltägliche und nicht alltägliche Probleme gelöst, Dinge beschafft oder gebaut und Geräte bedient oder repariert.

Was wäre ein Doktorand ohne den Arbeitskreis – oder die verschiedenen Generationen des Arbeitskreises, die ich in meiner Zeit hier erleben durfte. Vor allem Christian, Claudia, Jan P. und Christopher möchte ich dafür danken, dass sie mir den Anfang hier leicht gemacht und mir vieles erklärt haben.

Meinen Laborkollegen Jan, Kathy und Ronja danke ich für die vielen Stunden, die wir diskutiert, gearbeitet und auch gelacht haben.

Eike danke ich vor allem dafür, dass er mich auf die abstrusesten Gedankenwege statistischer Art begleitet hat und wir immer einen signifikanten Weg aus dem Dschungel der Varianzen und Irrtumswahrscheinlichkeiten finden konnten. Auch Kathy, Sven S. und Ronja hatten immer ein offenes Ohr und freie Gehirnwindungen, um mein so „anderes“ Thema zu diskutieren.

Auch an meine Kollegen in der Praktikumsbetreuung – Janine, Eike, Simon, Katha und Thea – möchte ich einen Dank dafür richten, dass wir letztlich doch immer alles geschafft haben.

Gereon, Eike, Sabrina, Katha und Ronja – Ihr seid einfach das i-Tüpfelchen meiner Promotionszeit – danke für alles, was vielleicht nicht an diese Stelle gehört.

Ihr lieben Korrekturleser, auch Euch möchte ich herzlich danken – für jede einzelne Anmerkung. Eike, Ronja, Marian und mein Vater haben großartige Arbeit geleistet um diese Arbeit zu dem zu machen, was sie jetzt ist.

Der letzte große Dank geht an meine Eltern und meinen Freund Marian – Ihr wisst, wofür!

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Kirsten Ute Petersen
Geburtsdatum	08.10.1982
Geburtsort	Kiel
Staatsangehörigkeit	deutsch

Schulbildung

1988 – 1992	Eichendorff Grund- und Hauptschule Kronshagen
1992 – 2001	Gymnasium Kronshagen, Allgemeine Hochschulreife

Studium

2001 – 2007	Studium der Pharmazie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
22.11.2007	2. Staatsexamen

Praktische Ausbildung

01/08 – 05/08 und 12/08	Brunnen-Apotheke, Kiel
06/08 – 11/08	Desitin Arzneimittel GmbH, Hamburg
06.02.2009	3. Staatsexamen

Wissenschaftlicher Werdegang

02.2009 – 10.2009	Diplomarbeit, Abteilung für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der CAU zu Kiel
23.10.2009	Diplom-Pharmazeutin
seit 10/09	Promotion, Abteilung für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der CAU zu Kiel

Hiermit erkläre ich gemäß §8 der Promotionsordnung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät und Technischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, dass ich die vorliegende Arbeit, abgesehen von der Beratung durch meinen Betreuer, selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Ich habe keine anderen als die angegebenen Quellen benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit ist unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis der Deutschen Forschungsgemeinschaft entstanden und wurde bei keiner anderen Universität zur Begutachtung eingereicht.

Kirsten Petersen
