



universität
wien

MASTERARBEIT / MASTER'S THESIS

Titel der Masterarbeit / Title of the Master's Thesis

Entwicklung lezithin-basierter Nanoemulsionen mit
Ginseng-Trockenextrakt: Herstellung, Charakterisierung
und Stabilitätskontrolle

verfasst von / submitted by
Simone Strohmaier, BSc.

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Magistra pharmaciae (Mag.pharm.)

Wien, 2022 / Vienna 2022

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears on
the student record sheet:

UA 066 605

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Masterstudium Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Michael Wirth

Mitbetreut von / Co-Supervisor:

Mag. Dr. Victoria Klang

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre eidesstattlich, dass ich die Arbeit selbständig angefertigt, keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt und alle aus ungedruckten Quellen, gedruckter Literatur oder aus dem Internet im Wortlaut oder im wesentlichen Inhalt übernommenen Formulierungen und Konzepte gemäß den Richtlinien wissenschaftlicher Arbeiten zitiert, durch Fußnoten gekennzeichnet bzw. mit genauer Quellenangabe kenntlich gemacht habe. Ich habe mich bemüht, sämtliche Inhaber*innen der Bildrechte ausfindig zu machen und ihre Zustimmung zur Verwendung der Bilder in dieser Arbeit eingeholt. Sollte dennoch eine Urheberrechtsverletzung bekannt werden, ersuche ich um Meldung bei mir.

Datum: Wien, am 29.06.2022

Unterschrift: 
Strohmaier Simone, BSc.

Danksagung

Besonderer Dank gebührt Frau Mag. pharm. Dr. Victoria Klang für die engagierte Betreuung und herzliche Aufnahme in ihr Team. Es war eine sehr spannende Thematik und ich konnte viel in dieser Zeit lernen. Vielen herzlichen Dank!

Weiteres möchte ich mich bei Frau Mag. pharm. Eva-Maria Schweiger bedanken, die keine Zeit und Mühe bei der Betreuung gescheut hat. Sie hat mich geduldig eingeschult, ist mir bei allen aufkommenden Fragen immer tatkräftig zur Seite gestanden und war mir über den gesamten Zeitraum, aber besonders bei den Permeationsversuchen, eine sehr große Hilfe! Vielen, vielen Dank liebe Eva!

Ein großer Dank gebührt Herrn Dr. Ammar Tahir, MSc. für die Bereitschaft zur Kooperation und infolgedessen der Analyse aller Proben mittels HPLC-Methode.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Wirth und der gesamten Division für pharmazeutische Technologie und Biopharmazie bedanken, die diese Masterarbeit ermöglicht haben.

Ein großer Dank geht auch an meine Studienkollegin und Freundin Verena Walter, die mich emotional und fachlich auf allen Ebenen unterstützt hat. Ohne die gemeinsamen Kaffeepausen und Gespräche wäre diese Arbeit nicht das geworden was sie jetzt ist.

Weiteres möchte ich meiner Studienkollegin und besten Freundin Hanna Niedermayr danken, die mich während des Studiums stets begleitet hat und mich immer in allen Lebenslagen, ob privat oder beruflich, tatkräftig unterstützt.

Ein sehr großes Danke gebührt meinem Verlobten Mathias, der mich während meiner gesamten Studienzeit motiviert und begleitet hat. Er hat immer an mich geglaubt, besonders wenn ich es selbst nicht konnte.

Abschließend möchte ich mich noch bei meiner Familie bedanken, die mir dieses Studium ermöglicht hat und mich von klein auf motiviert hat mein volles Potential auszuschöpfen. Vor allem meiner Mama gebührt ein großer Dank, da sie mich immer mit all ihren verfügbaren Mitteln unterstützt und auf meinem Lebensweg begleitet!

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Zielsetzung	6
2. Allgemeiner Teil	8
2.1. Die Haut	8
2.1.1. Der Aufbau der Haut	8
2.1.2. Die Barrierefunktion der Haut	10
2.1.3. Schweinehaut als Hautmodell	11
2.2. Emulsionen	12
2.2.1. Emulgatoren.....	12
2.2.2. Definitionen und Eigenschaften von Nano- und Mikroemulsionen	13
2.2.3. Partikelgröße und Hautpermeation von Nanoemulsionen.....	14
2.2.4. Stabilität von Nanoemulsionen	15
2.3. Die Pflanze Panax Ginseng.....	16
2.3.1. Herkunft und Allgemeines	16
2.3.2. Inhaltsstoffe.....	18
2.3.3. Systemische Wirkungen und Anwendungen	19
2.3.4. Topische Wirkungen und Anwendungen	20
2.3.5. Dosierungen, Unerwünschte Wirkungen und Wechselwirkungen	20
3. Verwendete Materialien	22
3.1. Wirkstoff: Ginseng-Trockenextrakt	22
3.2. Hilfsstoffe	22
3.2.1. Mittelkettige Triglyceride.....	22
3.2.2. Lezithine.....	23
3.2.3. Polysorbate	25
3.2.4. Zuckerester	26
3.2.5. Kaliumsorbat	27
4. Verwendete Methoden.....	29
4.1. Hochdruckhomogenisation	29
4.2. Dynamische Laserlichtstreuung.....	30
4.2.1. Hydrodynamischer Durchmesser	31
4.2.2. Polydispersitätsindex.....	31
4.3. Laser-Doppler-Elektrophorese	32
4.3.1. Zetapotential und Leitfähigkeit.....	32
4.4. pH-Messung.....	34

4.5.	Rheologie	34
4.5.1.	Begriffe und Definitionen	34
4.5.2.	Fließeigenschaften von Systemen.....	35
4.5.3.	Rotations- und Oszillationsversuche	38
4.5.4.	Zylinder-Becher-Methode und Doppelspaltzylinder	39
4.5.5.	Rheologie von Nanoemulsionen.....	40
4.6.	Franz-Diffusionszelle.....	41
4.7.	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	43
4.8.	Massenspektrometrie	44
5.	Experimente und deren Ergebnisse	45
5.1.	Zusammensetzung und Herstellung der Nanoemulsionen ohne Ginseng.....	45
5.2.	Zusammensetzung und Herstellung der Nanoemulsionen mit Ginseng.....	47
5.3.	Charakterisierung und Stabilitätsuntersuchungen aller Nanoemulsionen	49
5.3.1.	Ergebnisse der Makroskopischen Prüfungen	49
5.3.2.	Ergebnisse der Zetasizer®-Messungen	53
5.3.3.	Ergebnisse der pH-Messungen	63
5.3.4.	Vergleich der stabilen Formulierungen mit Ginseng-Trockenextrakt.....	67
5.3.5.	Ergebnisse der rheologischen Messungen.....	72
5.3.6.	Permeationsversuche mit Franz-Diffusionszellen	81
5.3.7.	Gehalts- und Stabilitätsuntersuchungen mittels UHPLC-MS	86
6.	Diskussion	89
7.	Zusammenfassung und Conclusio.....	96
8.	Abstract.....	98
9.	Literaturverzeichnis.....	100
10.	Anhang	105

1. Einleitung und Zielsetzung

Die Ginsengwurzel genießt vor allem im asiatischen Raum einen hohen Stellenwert und wird dort seit tausenden von Jahren erforscht. Wenn man das Wort Ginsengwurzel aus dem Koreanischen übersetzt, spricht man von der „Wurzel des Lebens“. In der chinesischen Sprache bedeutet Ginsengwurzel etwa „Kraft der Erde in Form eines Menschen“. Ginsengextrakt, der aus der Ginsengwurzel gewonnen wird, findet in der Ethnomedizin zahlreiche Anwendungen (1).

Es gibt botanisch gesehen 13 unterschiedliche Ginseng-Arten, von denen aber nur fünf therapeutisch verwendet werden und gut erforscht sind. Panax Ginseng, der auch als Echter Ginseng bezeichnet wird, ist eine dieser fünf Arten (2).

Die Pflanze Panax Ginseng wird sowohl systemisch als auch topisch verwendet. Systemisch kommt die Pflanze gerne als Tonikum und Adaptogen bei geriatrischen Patient*innen zum Einsatz (1).

Topisch kommt Panax Ginseng vor allem in Anti-Aging Produkten zur Anwendung, da eine antioxidative Wirkung der Ginsenoside in vielen Studien belegt wurde (3, 4).

Aufgrund dieser Erkenntnisse könnte Panax Ginseng für die dermale Anwendung eine äußerst vielversprechende Pflanze sein, die besonders im europäischen Raum bisher wenig erforscht wurde.

Erste Vorversuche der Arbeitsgruppe behandelten die Entwicklung von Nanoemulsionen zur Applikation von Panax Ginseng-Trockenextrakt. Als Emulgatoren dienten verschiedene Zusammensetzungen von Zuckerestern (5).

Da diese Nanoemulsionen aber hinsichtlich ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften nicht zufriedenstellend waren, sollten in der vorliegenden Arbeit andere Tenside ausgetestet werden.

Das Ziel dieser Masterarbeit war es daher, eine lezithin-basierte Formulierung als Vehikel für Panax Ginseng-Trockenextrakt mit zufriedenstellender Lagerstabilität über 12 Wochen zu entwickeln.

Lezithin hatte in früheren Studien positive Ergebnisse in Bezug auf Hautverträglichkeit und Wirkstoffpenetration gezeigt (6).

Im ersten Teil der Masterarbeit sollten verschiedene lezithin-basierte Nanoemulsionen mit und ohne Ginseng-Trockenextrakt hergestellt werden. Neben Lezithin

(Phosphatidylcholin) sollten hierfür Monoacylphosphatidylcholin (Lyssolezithin), Saccharoseester (Zuckerester) sowie Polysorbat 80 (Tween® 80) auf ihren Nutzen als Co-Emulgatoren hin untersucht werden.

Im zweiten Teil der Arbeit sollten die Formulierungen in Hinblick auf ihre chemisch-physikalischen Eigenschaften über einen Lagerzeitraum von 12 Wochen beobachtet und verglichen werden. Hierzu sollten folgende Methoden zur Anwendung kommen: Bestimmung des hydrodynamischen Durchmessers bzw. der Tröpfchengröße der Nanoemulsionen, Ermittlung des Zetapotentials, Bestimmung des Polydispersitätsindex (PDI), Ermittlung des pH-Werts, Messung des Gehalts an Ginsenosid Rg1 sowie Ermittlung der dynamischen Viskosität mittels linearer rheologischer Messung im Rotationsrheometer mit Zylinder/Becher-Apparatur unter Verwendung eines Doppelspaltzylinders.

Im dritten Teil der Arbeit sollten Permeationsversuche mit den stabilen Formulierungen durchgeführt werden, die den Ginseng-Trockenextrakt beinhalteten. Die Freisetzung der Ginsenoside sollte mithilfe von Schweineohrenhaut, die ein intaktes Stratum corneum aufwies, untersucht werden. Dank einer abteilungsübergreifenden Kooperation mit der Division für Pharmakognosie sollten die Permeationsversuche sowie die Gehaltsbestimmungen, die zur Überwachung der chemischen Stabilität dienen, mittels UHPLC-MS Technik ausgewertet werden.

Abschließend sollte zusammenfassend diskutiert werden, welche der entwickelten Vehikel sich für weitere Untersuchungen zur Ermittlung der antioxidativen Eigenschaften mittels in vitro bzw. in vivo-Studien eignen.

2. Allgemeiner Teil

2.1. Die Haut

Die Haut gilt, abgesehen von der Skelettmuskulatur, als das größte Organ des Menschen und weist eine Fläche von 1,5-2 m² auf. Somit beträgt der Anteil der Haut am Gesamtkörpergewicht ungefähr 7-10%. Der pH-Wert der Haut liegt im Allgemeinen zwischen 4,2 und 5,6. In Abhängigkeit von der jeweiligen Körperregion kann der pH-Wert aber variieren. Die Haut erfüllt viele unterschiedliche Aufgaben. Der Schutz gegen mechanische bzw. chemische Einwirkungen stellt jedoch die Hauptaufgabe der Haut dar. Abgesehen von dieser Funktion spielt die Haut eine wichtige Rolle bei der Thermoregulation, der körpereigenen Vitamin-D-Synthese und auch der Tastsinn kann nur über die Haut erfolgen (7, 8).

2.1.1. Der Aufbau der Haut

Die Haut besteht aus unterschiedlichen Schichten, die grob in drei Hauptschichten eingeteilt werden können. Die oberste Schicht wird Epidermis oder Oberhaut genannt und besteht mit ca. 90% überwiegend aus Keratinozyten. Darunter liegt die Dermis, die im Deutschen auch als Lederhaut bezeichnet wird. In dieser Schicht findet man im Gegensatz zur Epidermis Blutgefäße, Lymphe und Nervenzellen. Die Proteine Kollagen und Elastin sind die Hauptbestandteile der Dermis. Sie sind für die mechanische Stabilität und die Elastizität der Haut verantwortlich. Die Dermis besteht zu 70% aus Wasser. Zu guter Letzt liegt darunter die Subkutis, für die Synonyme wie Unterhaut oder Hypodermis gebräuchlich sind. Die Subkutis fungiert als Fettspeicher, da sie Fettgewebe beinhaltet. Aber auch die Polsterung der Haut gehört zu ihrem Aufgabenbereich, da man auch in dieser Schicht Bindegewebszellen findet. In der Dermis sind zudem Schweißdrüsen, Talgdrüsen und Haarfollikel verankert, welche ihre Ausgänge an der Hautoberfläche haben (7, 9-11).

Hautschichten der Epidermis:

In Abbildung 1 sind die unterschiedlichen Schichten, in welche die Epidermis unterteilt werden kann, dargestellt. Die oberste Schicht der Epidermis wird Stratum corneum oder auch Hornschicht genannt. Sie enthält etwa 15-30 Zellschichten, die sogenannten Korneozyten. Diese Korneozyten sind abgestorbene Keratinozyten, das heißt sie besitzen keinen Zellkern mehr. Sie weisen eine Dicke von je 0,5 µm und eine Länge von 30-40 µm auf. Für die Barrierefunktion der Haut sind die Korneozyten und somit

das Stratum corneum hauptverantwortlich (7, 9-11). Eine weitere Besonderheit des Stratum corneums ist, dass diese Zellschicht sich alle vier Wochen vollständig erneuert. Unter der Hornschicht liegt das Stratum lucidum, auch Glanzschicht genannt. Das Besondere dieser Schicht ist, dass sie nur bei Hand- und Fußsohlen vorhanden ist. Darunter liegt die Körnerschicht, das Stratum granulosum. Diese Schicht ist die erste, die lebende Keratinozyten beinhaltet. Die Zellen dieser Schicht enthalten größere Mengen der Proteine Keratin und Keratohyalin. Diese zwei Proteine verleihen dem Stratum granulosum sein körniges Aussehen und somit auch seinen Namen. Darunter liegt die Stachelzellschicht, auch Stratum spinosum genannt. In dieser Schicht befinden sich die Langerhans Zellen, die als Makrophagen tätig sind und infolgedessen Bakterien und Fremdpartikel abwehren. Als unterste Schicht der Epidermis erfüllt die Basalschicht, das Stratum basale oder auch Stratum germinativum genannt wird, eine wichtige Rolle. In dieser einlagigen Schicht werden die Keratinozyten durch Mitose kontinuierlich produziert. Neben den Keratinozyten befinden sich jedoch noch weitere Zellen in dieser Schicht. Die sogenannten Merkel Zellen, die als Rezeptoren fungieren und für die Stimulierung der sensorischen Nerven verantwortlich sind, sowie die Melanozyten, die das Pigment Melanin produzieren, das für Haut- und Haarfarbe verantwortlich ist (7, 9-11).

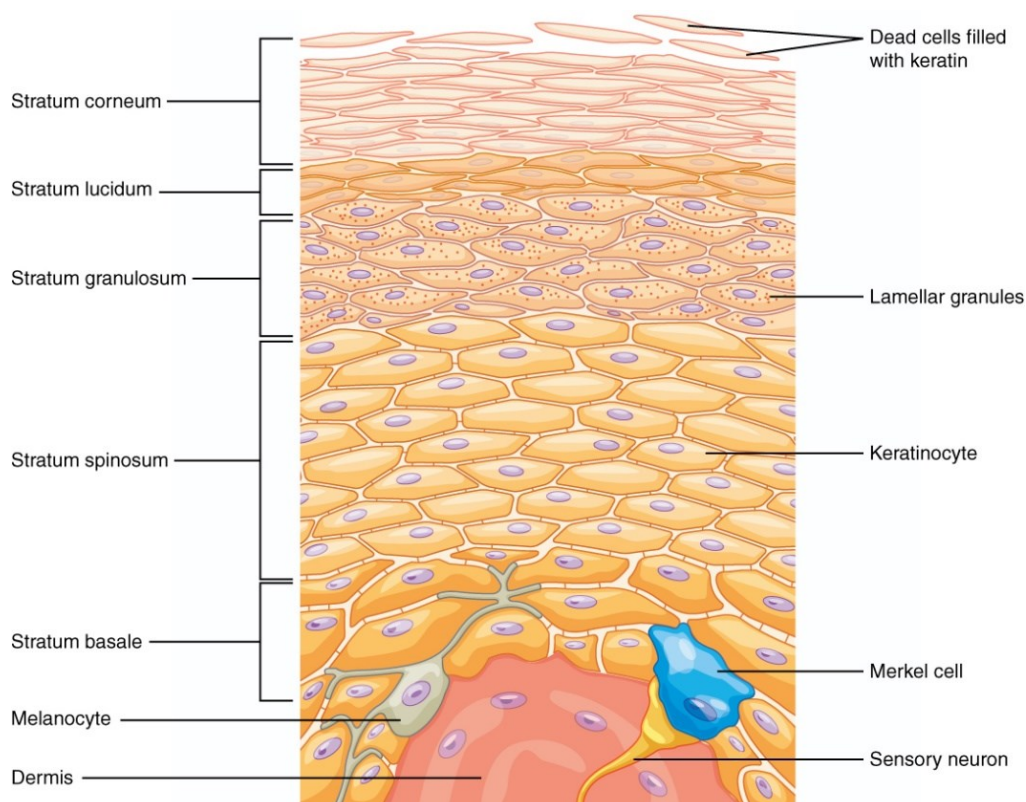


Abbildung 1: Hautschichten der Epidermis (9)

2.1.2. Die Barrierefunktion der Haut

Wie schon beim Aufbau der Haut erwähnt wurde, ist das Stratum corneum für die Barrierefunktion der Haut hauptverantwortlich. Das liegt daran, dass das Stratum corneum für viele Stoffe nur schwer permeabel ist. Denn eine Substanz muss mehrere hydrophile und lipophile Schichten hintereinander durchdringen, wenn sie durch diese Barriere gelangen will. Die Korneozyten sind in einer Lipiddoppelschicht aus Triglyceriden, Fettsäuren, Ceramiden, Cholesterolen und Cholesterolderivaten eingebettet und bilden zusammen ein starres Gerüst. Dieses Gerüst wird sehr häufig im Englischen als „brick and mortar model“ bezeichnet. Im deutschsprachigen Raum findet man meist die Bezeichnung des Ziegel-Mörtel-Prinzips. Charakteristisch für diese Hautschicht ist zudem die Abwesenheit von Phospholipiden. Des Weiteren weist das Stratum corneum nur einen geringen Wassergehalt auf und diese Gegebenheit erschwert den Mechanismus der Diffusion noch zusätzlich. Es gibt fünf unterschiedliche Diffusionsrouten durch die Haut – interzellulär, transzellulär, transglandulär, transfollikulär und corneodesmosomal (7, 8, 10, 11). Zu den Transportwegen, die transepidermal erfolgen, gehören der interzelluläre, transzelluläre und corneodesmosomale Weg. Der interzelluläre Transport gilt als die Hauptroute der Hautpermeation, wogegen der transzelluläre Weg nur eine kleine Rolle bei der Diffusion spielt. Die transglandulären und transfollikulären Transporte erfolgen entlang der Hautanhangsgebilde. In neueren Forschungen gewinnt der transfollikuläre Weg immer mehr an Bedeutung, da er besonders für kolloidale Formulierungen genutzt werden kann. Mithilfe dieses Transportweges kann man schlecht wasserlösliche Substanzen transportieren, die transepidermal kaum diffundieren würden (7, 8, 10, 11). Generell diffundieren große Moleküle im Gegensatz zu kleineren schlechter und die Substanz sollte eine gewisse Lipophilie sowie eine gewisse Wasserlöslichkeit aufweisen, damit sie gut durch die Haut permeieren kann. Auch das verwendete Vehikel und dessen Eigenschaften wie zum Beispiel Viskosität oder Zusammensetzung sind für die Aufnahme des Wirkstoffs in die Haut von großer Bedeutung. Neben dem Vehikel sind aber auch die Eigenschaften des verwendeten Arzneistoffs wichtig. Hier spielen Parameter wie Konzentration, Löslichkeit in der Grundlage, Schmelzpunkt und Molekülgröße eine wesentliche Rolle. Zusätzlich zu diesen Aspekten sollte man sich bei der Formulierungsentwicklung überlegen, ob eine systemische oder lokale Anwendung gewünscht ist, für welchen Applikationsort die

Zubereitung gedacht ist und wie die Beschaffenheit der Haut an dieser Stelle ist (7, 8, 10, 11).

2.1.3. Schweinehaut als Hautmodell

Es ist schon lange bekannt, dass die Haut von Schweinen eine große Ähnlichkeit mit der menschlichen Haut aufweist. Bereits vor 1900 wurden Hautstudien an Schweinen durchgeführt. Dafür betrachteten WissenschaftlerInnen Haut von unterschiedlichen Körperregionen von Schweinen und bekamen erste Eindrücke von der Struktur der Schweinehaut. Im Vergleich zu heute gab es damals noch keine so fortgeschrittene Messmethoden. In einer Studie, die im Jahr 2006 veröffentlicht wurde (12), haben sich Forschende explizit mit Schweineohren beschäftigt. Mithilfe von modernen histologischen und mikroskopischen Untersuchungen wurde die Eignung des Schweineohrs als in vitro Hautmodell in Bezug auf den Menschen analysiert. Die WissenschaftlerInnen sind zu dem Ergebnis gekommen, dass das Schweineohr sehr gut als in vitro Hautmodell geeignet ist. Das kann damit begründet werden, dass die Hautstruktur von Schweineohren sehr viele Gemeinsamkeiten mit der Struktur der menschlichen Haut besitzt. Wenn man das Ohr mit anderen Körperregionen des Schweines vergleicht, ist klar ersichtlich, dass das Ohr gegenüber anderen Regionen überlegen ist. Jedoch muss man an dieser Stelle anmerken, dass es sich auch hier nur um ein Modell handelt und einige Unterschiede zur Struktur der menschlichen Haut vorliegen. Das Stratum corneum ist beim Schwein mit ca. 21 μm etwas dicker als beim Menschen, der in Abhängigkeit von der jeweiligen Körperregion Werte zwischen 6 und 19 μm Hornhautdicke zu verzeichnen hat. Die Hautdicke der Schweineohren beträgt im Allgemeinen ca. 1,86 mm und ist damit um einiges dicker als die Haut beim Menschen, die zwar am Rücken zwischen 1,8 und 1,9 mm misst, aber an allen anderen Körperregionen nur eine Dicke von etwa 1 mm aufweist. Bei der Haut des Schweineohrs wurden im Durchschnitt 20 Haare pro 1 cm^2 gezählt, dagegen liegt die durchschnittliche Zahl der Haare pro 1 cm^2 beim Menschen zwischen 14 und 32. Die Durchmesser der Haarschäfte der Schweine unterscheiden sich nicht von dem der terminalen menschlichen Haare. Wenn man jedoch vellus oder intermediäre Haarschäfte des Menschen mit den Haarschäften von Schweinen vergleicht, sind die des Schweines zwei- bis fünfmal so dick (12). Das sind nur einige Beispiele, die veranschaulichen sollen, dass die Ergebnisse zwischen Schwein und Mensch ähnlich, aber nicht ident sind.

2.2. Emulsionen

Laut Definition ist eine Emulsion ein disperses System bestehend aus zwei Flüssigkeiten, oder zwei flüssigkristallinen Phasen, die nicht miteinander mischbar sind. Emulsionen lassen sich in Öl-in-Wasser- (O/W) und Wasser-in-Öl-Systeme (W/O) einteilen. Bei O/W-Emulsionen machen die fein dispergierten Öltröpfchen die innere Phase aus. Das Wasser ist also die äußere Phase, die als Dispersionsmittel dient. Im Gegensatz dazu stellt bei W/O-Systemen das Wasser die innere Phase dar und das Öl ist das Dispersionsmittel. Des Weiteren gibt es aber auch sogenannte Doppelemulsionen, die als O/W/O- oder W/O/W-Systeme vorliegen. Diese multiplen Emulsionsformen sind aber meist wenig stabil und stellen deshalb nur eine Übergangsform dar. Aufgrund der hohen Grenzflächenspannung von Öl zu Wasser, wäre eine Emulsion bestehend aus alleinig diesen zwei Komponenten instabil und deshalb braucht es noch eine weitere Komponente, die sogenannten Emulgatoren (7).

2.2.1. Emulgatoren

Emulgatoren gehören zu den Tensiden und setzen laut Definition die Oberflächen- bzw. Grenzflächenspannung in Emulsionen herab. Es gibt sehr viele unterschiedliche Tenside. Sie alle weisen eine amphiphile Struktur auf, das heißt sie besitzen sowohl hydrophile als auch lipophile Gruppen. Eine Klassifizierungsmöglichkeit bietet der Ladungszustand der Tenside. Die Einteilung erfolgt in anionenaktive, kationenaktive, amphotere und nichtionogene Tenside. Das populärste Beispiel für ein anionenaktives Tensid ist Natriumlaurylsulfat, auch SDS (=sodium dodecyl sulfate) genannt. Zu den kationenaktiven Tensiden gehören die quartären Ammoniumverbindungen. Ein Beispiel für diese Substanzgruppe ist das Cetrimid. In dieser Arbeit untersuchte man vor allem die Lecithine, die Phospholipide sind und zu den amphoteren Tensiden zählen (10). Mehr über die Struktur und die Eigenschaften der Lecithine kann man in Kapitel 3 – Verwendete Materialien lesen. Zu guter Letzt gibt es noch die Gruppe der nichtionogenen Tenside. Dazu zählen die Macrogolderivate mit ihrem bekanntestem Vertreter Polysorbat 80, der den Handelsnamen Tween® 80 trägt und ebenfalls in Kapitel 3 näher erläutert wird. Aber auch die Sorbitanderivate, die im Handel als Spans® bekannt sind, gehören zu den nichtionogenen Tensiden. Ein bekannter Vertreter dieser Gruppe wäre Span® 20. Zwei weitere Untergruppen der nichtionogenen Tenside stellen die Sterole und die Fettalkohole dar. Ein populäres

Beispiel für ein Sterol ist Cholesterin; bei den Fettalkoholen genießt besonders Cetylalkohol Bekanntheit. Nichtionogene Tenside kann man anhand des Hydrophilic-Lipophilic-Balance-Wertes (HLB-Wert), der von Griffin geprägt wurde, in unterschiedliche Gruppen einteilen. Griffin wies jedem Tensid einen Zahlenwert zu, den er mithilfe der Stöchiometrie abhängig vom Anteil der lipophilen und hydrophilen Komponenten berechnete. Lipophile Stoffe wie zum Beispiel W/O-Emulgatoren haben demnach einen niedrigen HLB-Wert von ca. 3-6, für hydrophile Substanzen wie O/W-Emulgatoren liegen die Werte zwischen 8 und 18. Der HLB-Wert allein, sagt aber nicht viel darüber aus, ob dieser Emulgator für die verwendete Lipidphase geeignet ist. Dazu muss man den sogenannten „erforderlichen HLB-Wert“ bestimmen (10).

2.2.2. Definitionen und Eigenschaften von Nano- und Mikroemulsionen

In der Kolloidalforschung kam die Bezeichnung Mikroemulsion das erste Mal 1961 vor (13). In den letzten zwanzig Jahren etablierte sich dann noch ein weiterer Terminus, nämlich die Nanoemulsion. Bei diesen zwei Arten von Emulsionen handelt es sich um Emulsionen mit deutlich kleineren Teilchengrößen. Die beiden Begriffe wurden, und werden heutzutage immer noch, häufig falsch eingesetzt. Die Abgrenzung voneinander ist nicht immer eindeutig, aber es gibt charakteristische Unterschiede, die im Anschluss kurz diskutiert werden sollen. Das offensichtlichste Merkmal stellt die Partikelgröße dar und genau die sorgt oft für Verwirrung. Mikroemulsionen weisen nämlich in der Praxis oft kleinere Partikelgrößen als Nanoemulsionen auf. Aber wie lässt sich das erklären? Der Hauptgrund für dieses Phänomen ist, dass mit Mikroemulsionen schon in den 1960er Jahren geforscht wurde und der Begriff Nanoemulsion erst deutlich später aufkam. Folglich wurde die Unterscheidung der beiden Termini erst in den letzten 30 Jahren vorgenommen. Nanoemulsionen waren früher unter anderen Namen bekannt wie zum Beispiel als Submikron- oder ultrafeine Emulsionen. In der heutigen Literatur sind immer noch unterschiedliche Grenzwerte, die die Partikelgröße beschreiben, zu finden. Die angestrebten Werte reichen von unter 100 nm bis hin zu einer Obergrenze von 500 nm (13). Ein weiteres Problem stellt die Publikation von Forschungsergebnissen dar, denn in Veröffentlichungen wird nicht immer klar definiert, ob sich die WissenschaftlerInnen auf den Radius oder den Durchmesser der untersuchten Partikel beziehen. Die Zusammensetzung der Emulsionen dient auch nur bis zu einem gewissen Grad als Hinweis, da man für Nano- und Mikroemulsionen jeweils eine

Ölphase, eine Wasserphase und ein oder mehrere Emulgatoren verwendet. Als Anhaltspunkt dient das Verhältnis von Tensid zu Ölphase, denn für die Herstellung von Mikroemulsionen werden im Vergleich zu Nanoemulsionen meist höhere Tensidkonzentrationen benötigt. Mikroemulsionen sind thermodynamisch stabil, wenn gewisse Parameter wie Zusammensetzung und Temperatur nicht verändert werden. Des Weiteren können sich Mikroemulsionen spontan ausbilden. In der praktischen Herstellung hat sich aber gezeigt, dass oft Wärme oder mechanische Beanspruchung wie zum Beispiel Rühren eingesetzt werden müssen, um die Energiebarrieren zu überwinden. Bei der Herstellung von Nanoemulsionen muss hingegen immer Energie von außen zugeführt werden, da es sich um thermodynamisch instabile Systeme handelt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die freie Energie der separaten Phasen kleiner ist als die der kolloidalen Dispersion und die Systeme bekanntlich stets den Zustand mit der kleinsten freien Energie bevorzugen. Nanoemulsionen sind im Gegensatz zu Mikroemulsionen metastabil, also kinetisch stabil, wenn eine ausreichend große Energiebarriere von etwa 20 kT (Kilotonnen) zwischen den zwei Zuständen herrscht. Weitere mögliche Anhaltspunkte für die Unterscheidung der zwei Emulsionstypen sind die Partikelform und die Partikelgrößenverteilung. Partikel von Nanoemulsionen sind in der Regel sphärisch und weisen eine breitere Verteilung mit zahlreichen Peaks auf. Mikroemulsionen hingegen können sphärische oder nicht sphärische Partikelformen enthalten und verfügen über eine engere Partikelgrößenverteilung mit meist nur einem einzelnen Peak. Der wichtigste Unterschied stellt jedoch die Bioäquivalenz dar, auf die im nächsten Unterkapitel eingegangen wird (13).

2.2.3. Partikelgröße und Hautpermeation von Nanoemulsionen

Kolloidale Träger, zu denen unter anderem auch Nanoemulsionen zählen, verbessern mithilfe des sogenannten Lokalisierungseffekts die Wirkstoffpenetration durch die Haut. Dieser Effekt bewirkt, dass es zu einer Anreicherung der Formulierung in oberen Hautschichten wie dem Stratum corneum kommt (11).

Eine Studie hat mithilfe von konfokaler Mikroskopie gezeigt (14), dass Partikel, die ≥ 600 nm messen, nicht in tiefere Hautschichten eindringen können. Dagegen waren Partikel die eine Größe von ≤ 300 nm aufwiesen, zumindest in gewissem Maße in der Lage in die lebenden Epidermisschichten einzudringen. Die vielversprechendsten

Ergebnisse lieferten jedoch Partikel, die eine Größe um 70 nm hatten. Diese Partikel konnten sogar bis in die lebende Dermis vordringen (14).

Um eine ausreichende Wirkstoffpermeation durch das Stratum corneum zu gewährleisten, wurde in dieser Arbeit eine Partikelgröße von etwa 100-150 nm für die Emulsionen angestrebt. Werte unter 100 nm wären wünschenswert, sind aber in der Praxis schwierig zu erreichen.

2.2.4. Stabilität von Nanoemulsionen

Ein weiteres Argument für die angestrebte Partikelgröße ist, dass Partikel unter 90 nm eine höhere Stabilität aufweisen, da sie weniger anfällig für Sedimentation und Aufräumung sind (10, 13). Bei diesen zwei Phänomenen kommt es innerhalb der Nanoemulsion zu einer Phasentrennung. Dabei bilden sich zwei separate Schichten aus und somit wird die Formulierung inhomogen. Dieser Prozess ist jedoch reversibel und kann durch Aufschütteln wieder rückgängig gemacht werden, da sowohl Größe als auch Anzahl der Partikel gleichbleiben. Eine weitere Begründung für die erhöhte Stabilität bei kleinen Partikelgrößen ist, dass bei einer Partikelgröße von unter 90 nm die Brown'sche Molekularbewegung eine größere Rolle als die Gravitationskraft einnimmt (10, 13). Es gibt noch weitere physikalische Prozesse, die für die Instabilität von Nanoemulsionen verantwortlich sind. Hier wären Flokkulation, Koaleszenz und Ostwald'sche Reifung zu nennen. Die Flokkulation, oder auch Flockung genannt, beschreibt die traubenförmige Zusammenlagerung von Emulsionstropfen. Der physikalische Vorgang der Koaleszenz ist hingegen das Zusammenfließen von kleineren Tröpfchen, die dann gemeinsam einen großen Tropfen bilden. Die Ostwald'sche Reifung ist der Grund dafür, dass sich die Verteilung der Partikelgröße in einer Lösung ändert. Beim Prozess der Ostwaldschen Reifung bildet sich ein Konzentrationsgefälle, denn um kleine Partikel stellt sich eine höhere Sättigungskonzentration ein. Das hat zur Folge, dass gelöste Substanzen erneut auskristallisieren und sich nun an größere Partikel anlagern. Somit gewinnen große Partikel zu Ungunsten von Kleineren noch zusätzlich an Größe. Alle genannten physikalischen Prozesse werden durch zahlreiche Parameter beeinflusst. Wichtige Faktoren sind das verwendete Öl, das verwendete Tensid, die Konzentrationen der Bestandteile, der pH-Wert, die Ionenstärke aber auch Umgebungsbedingungen wie Temperatur oder die Einwirkung von verschiedenen Kräften. Die Praxis hat gezeigt, dass bei Verwendung eines Öls mit sehr geringer Wasserlöslichkeit die

Ostwald'sche Reifung bis zu einem gewissen Grad verhindert werden kann. Um Flokkulation und Koaleszenz entgegenzuwirken, sollte man einen Emulgator verwenden, der eine starke Abstoßung zwischen den Partikeln erzeugt, da die Partikel dann eine geringere Tendenz zueinander zeigen (10, 13).

2.3. Die Pflanze Panax Ginseng

2.3.1. Herkunft und Allgemeines

Vor ca. 5000 Jahren wurde Ginseng in China entdeckt. Übersetzt aus dem Chinesischen bedeutet Ginseng menschenförmige Wurzel. Wenn man sich die Pflanze in Abbildung 2 ansieht, erkennt man, dass die Wurzel tatsächlich einer menschlichen Gestalt ähnelt. Das Wort Panax bezeichnet in der Botanik die Gattung der Pflanze. Es stammt aus dem Griechischen und kann mit Heilmittel übersetzt werden. In der TCM (=Traditionellen Chinesischen Medizin) zählt Ginseng zu den bedeutendsten Heilmitteln und wird dort gegen alle möglichen Beschwerden als Einzeldroge oder in Kombination mit anderen Arzneidrogen eingesetzt. Botanisch zählt die Pflanze Panax Ginseng zur Familie der Araliengewächse, Araliaceae. Es gibt 13 verschiedene Unterarten der Gattung Panax, wobei diese unterschiedlich gut erforscht sind (2).

Ein großes Problem bei der Literaturrecherche zu Ginseng ist, dass in den westlichen Ländern ein Mangel an wissenschaftlichen Daten herrscht, da die meisten Panax Arten im Nahen Osten beheimatet sind und somit auch mehrheitlich in China, Korea und Japan zu dieser Thematik geforscht wird (15).

Panax Ginseng ist eine mehrjährige Pflanze, die bis zu 80 cm in die Höhe wächst und handförmige Blätter an ihrem langstieligen Stängel trägt. Die fünf-zähligen gelblich-weißen Blüten blühen Juni bis Juli und die Pflanze besitzt etwa erbsengroße, scharlachrote Steinfrüchte. Wenn die Pflanze ein Alter von mindestens sechs Jahren erreicht hat und ein Gewicht zwischen 60 und 100 Gramm aufweist, kann die Wurzel getrocknet werden und anschließend als Spezialität verwendet werden. Ginseng kann bis zu 100 Jahre alt werden. In der Ethnomedizin heißt es, je älter eine Pflanze sei, desto stärker sei ihre Heilkraft (2).

Im Handel findet man meist den Weißen und den Roten Ginseng. Diese zwei Arten lassen sich durch die Behandlungsmethode der Wurzel unterscheiden. Um den Roten Ginseng zu erhalten, wird die frische Ginsengwurzel mehrere Stunden mit Wasserdampf bei 95-100°C behandelt. Zur Gewinnung des Weißen Ginsengs wird die

frische Wurzel nach der Ernte luftgetrocknet. Eine weitere Art des Ginsengs, die man mithilfe von wiederholter Wasserdampfbehandlung gewinnen kann, stellt der Schwarze Ginseng dar. In einer Studie aus Korea wurden Weißer, Roter und Schwarzer Ginseng miteinander verglichen (16). Die Forschenden haben herausgefunden, dass die Behandlung mit Wasserdampf zu einer Veränderung der Zusammensetzung der Ginsenoside führt. Dies ist eine wichtige Erkenntnis, denn die Ginsenoside machen die Hauptinhaltsstoffgruppe der Pflanze aus. Es kommt in Folge dieser Wasserstoffbehandlung zu chemischen Reaktionen wie Hydrolyse, Dehydration oder Isomerisation. Diese Reaktionen erzeugen andere pharmakologisch hochwirksame Subtypen von Ginsenosiden wie zum Beispiel Rg3, Rg5, oder Rk1. Abgesehen von den Ginsenosiden nimmt die Anzahl der bioaktiven Komponenten durch die Behandlung mit Wasserdampf aber generell zu. Wichtige Stoffgruppen, die hier zu nennen wären, sind reduzierende Zucker, Polysaccharide und Phenole. In derselben Studie wurde auch die antioxidative Wirkung der drei Ginseng Arten untersucht. Dem Roten und dem Schwarzen Ginseng konnte im Vergleich mit dem Weißen Ginseng eine höhere antioxidative Wirkung zugeschrieben werden. Ein großer Nachteil des Schwarzen Ginsengs ist jedoch, dass er das Karzinogen Benzo(a)pyren beinhaltet. Aus dieser Studie lässt sich schlussfolgern, dass der Rote Ginseng als qualitativ am hochwertigsten gilt, da er eine hohe Konzentration an bioaktiven Komponenten aufweist und gleichzeitig kein schädliches Karzinogen beinhaltet (16).



Abbildung 2: Ginsengwurzel (17)

2.3.2. Inhaltsstoffe

Panax Ginseng verfügt über zahlreiche Inhaltsstoffe, die sich chemisch und pharmakologisch sehr stark voneinander unterscheiden. Die sogenannten Ginsenoside sind die für die Wirkung hauptverantwortlichen Inhaltsstoffe. Man konnte in der Vergangenheit über 150 verschiedene Ginsenoside in den unterschiedlichen Panax-Arten isolieren. Laut einer Forschung von 2009 befinden sich in der Pflanze Panax Ginseng 40 unterschiedliche Ginsenoside (18).

Von diesen 40 sind aber nur sechs Substanzen für 90% der Gesamtmenge der Ginsenoside in der Pflanze verantwortlich. Diese sind Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re und Rg1 (19).

Chemisch betrachtet zählen Ginsenoside zu den Triterpensaponinen und werden aufgrund ihrer Aglykone in unterschiedliche Gruppen eingeteilt. Die meisten Ginsenoside werden zum Dammaran-Typ gezählt, aber es gibt auch ein paar wenige die dem Oleanan-Typ zugeordnet werden. Des Weiteren existieren noch Untergruppen der beiden Typen, die in Abbildung 3 dargestellt sind: (a) Protopanaxadiol-Gruppe (Rb1, Rb2, Rb3, Rc, Rd, Rg3, Rh2, Rs), (b) Protopanaxatriol-Gruppe (Re, Rf, Rg1, Rg2, Rh), (c) Oleanolsäure-Gruppe (Ro). Die Untergruppe der Protopanaxadiole und -triole zählen zum Dammaran-Typ und wie der Name schon vermuten lässt, werden die Ginsenoside der Oleanolsäure dem Oleanan-Typ zugeordnet (20).

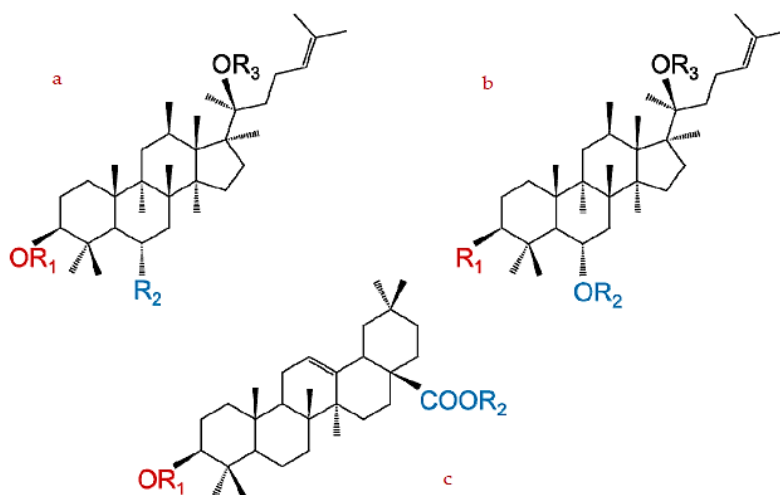


Abbildung 3: Chemische Struktur der Untergruppen der Ginsenoside (20)

Ein grundlegendes Problem der Ginsenoside stellt die Absorption dar. Aufgrund ihrer hohen Polarität werden die meisten schlecht über den Darm aufgenommen und infolgedessen werden nur geringe Konzentrationen im Blut erreicht.

WissenschaftlerInnen versuchen mithilfe von unterschiedlichen Techniken die Bioverfügbarkeit der Ginsenoside zu steigern. Es kommen Konjugate mit Polymeren oder Fettsäuren zum Einsatz, sowie Nanotechnologien (19).

Neben den Triterpensaponinen findet man im Ginseng zahlreiche weitere Stoffgruppen. Zu nennen wären Phytosterole, Alkohole, Fettöle, ätherische Öle, Kohlenhydrate (Mono-, Di-, Trisaccharide), Ballaststoffe, Zucker, Aminosäuren, Peptide, Stickstoffverbindungen, organische Säuren, Vitamine (C und B), Mineralstoffe (Natrium, Magnesium, Kalium, Phosphor, Calcium) und Spurenelemente (Bor, Zink, Eisen, Kupfer), sowie einige Enzyme, die aber noch nicht vollständig bekannt und erforscht sind (2, 15).

2.3.3. Systemische Wirkungen und Anwendungen

Die systemischen Wirkungen sind bei der Pflanze Ginseng am bedeutendsten, da Ginseng meist als orales Tonikum bzw. als Adaptogen eingesetzt wird (1). Adaptogene zeichnen sich dadurch aus, dass sie die Anfälligkeit für Krankheiten verringern und die natürliche Abwehrkraft des Körpers steigern. Zudem wird mit Ginseng die Heilung nach einer Operation beschleunigt und auch die Immunabwehr wird vermehrt stimuliert. Des Weiteren hat Ginseng Wirkungen auf das ZNS, genauer gesagt auf die Hypophyse und folglich werden Gehirnfunktionen beeinflusst. Es kommt zu einer Steigerung der Gedächtnisleistung und auch die Konzentration wird im Allgemeinen erhöht. Aufgrund dieser Wirkungen verwendet man Ginseng gerne bei geriatrischen Patient*innen. Auch im Gastrointestinaltrakt sind positive Effekte des Ginsengs zu beobachten. In der Leber wirkt Ginseng hepatoprotektiv und im Darm kommt es zu einer Regulierung der Bakterienflora. Infolgedessen können bestimmte Bakterien im Darm selektiv gehemmt werden (1).

In Tierexperimenten konnten in Bezug auf das kardiovaskuläre System auch positive Effekte des Ginsengs nachgewiesen werden (21). Ginseng verhinderte bei Ratten Infarkte und Ischämien des Herzens (21).

Aber auch DiabetikerInnen (Typ-1 und Typ-2) profitieren von der Einnahme von Ginseng. Für Typ-2-DiabetikerInnen ist die Verbesserung der Insulinresistenz von größter Relevanz, aber auch der Transport von Glucose und die Glucosetoleranz selbst werden laut Forschungen durch die Einnahme von Ginseng positiv beeinflusst (22). Bei Typ-1-DiabetikerInnen kann die immunsuppressive Wirkung von

Compound K bei Inselzelltransplantationen genutzt werden und somit leistet Ginseng auch hier einen positiven Beitrag (22).

Eine weitere Tierstudie zeigte (23), dass die zusätzliche Einnahme von Ginseng während einer Krebstherapie positive Auswirkungen auf den Körper haben könnte. Experimente an Mäusen zeigten, dass die Saponine der Ginsengwurzel Knochenmarkszellen und periphere Lymphozytenzellen gegen eine Cyclophosphamid-induzierte Gentoxizität bzw. Apoptose schützen können (23).

2.3.4. Topische Wirkungen und Anwendungen

Besonders für die Kosmetikindustrie ist die antioxidative Wirkung des Ginsengs von großem Interesse. In den letzten Jahren wurde Ginseng vermehrt in Anti-Aging-Produkten wie zum Beispiel Cremen oder Lotionen eingesetzt. Diese Produkte enthalten überwiegend Extrakte des Ginsengs. Ein häufiges Problem bei diesen Ginsengextrakten ist jedoch, dass die Inhaltsstoffe nicht ausreichend deklariert werden und somit die Wirkung dieser Produkte nicht ausreichend wissenschaftlich belegt werden kann. Das hatte in jüngster Vergangenheit zur Folge, dass viele (Billig-) Produkte mit Ginseng in Verruf gekommen sind. Laut Forschungen sind die Panaxatriol-Saponine für die antioxidativen Mechanismen hauptverantwortlich (3, 4). Diese Gruppe der Saponine aktiviert antioxidative Enzyme wie zum Beispiel die Superoxiddismutase. Des Weiteren wird durch sie die Apoptose der Zellen gehemmt und die Zahl der Zellen, die sich in der S-Phase befinden, wird reduziert. Auch die Konzentration der intrazellulären H_2O_2 Moleküle nimmt ab. Compound K, der ein Metabolit des Ginsenosids Rb1 ist, spielt beim Anti-Aging Effekt des Ginsengs ebenfalls eine wichtige Rolle. Durch diese Substanz kann die Expression von COX-2 sowie die Produktion der Matrix-Metalloproteinase-1 gehemmt werden. Das hat zur Folge, dass die Hautfeuchtigkeit und der Kollagengehalt der Haut zunehmen. Ein weiterer kosmetischer Effekt, der besonders in Südkorea erforscht wird, ist die bleichende Wirkung der Ginsenoside. Dieser Effekt beruht auf Hemmung der Synthese und Sekretion von Melanin. Der genaue Wirkmechanismus ist aber noch nicht komplett erforscht und lässt noch einige Fragen offen (3, 4).

2.3.5. Dosierungen, Unerwünschte Wirkungen und Wechselwirkungen

Panax Ginseng ist bekannt dafür, dass bei Einnahme von gebräuchlichen Dosen keine unerwünschten Wirkungen auftreten. Als gebräuchliche Einzeldosis wird 3 g der

Ginsengwurzel für eine Tasse Tee verwendet. Man kann bis zu drei Tassen Tee pro Tag trinken. Man sollte jedoch beachten, dass 10 mg Ginsenoside benötigt werden, um eine therapeutische Dosis zu erreichen (24).

Ginseng ist in der Schwangerschaft und Stillzeit sowie bei Kindern kontraindiziert, da es zu wenige wissenschaftliche Studien mit diesen Gruppen gibt. Bei Überdosierungen der Droge treten unerwünschte Wirkungen wie zum Beispiel Bluthochdruck, Kopfschmerzen, Diarrhoe, Schlaflosigkeit und innere Unruhe auf (15).

Panax Ginseng wird oft die Interaktion mit Arzneimitteln wie Warfarin, Midazolam, oder oralen Antidiabetika nachgesagt. Dies könnte auf eine Enzymhemmung von CYP1A2, CYP3A4 und P-Glykoprotein rückzuführen sein (25). Man muss aber bedenken, dass die meisten Untersuchungen in vitro stattgefunden haben und man deshalb die klinische Relevanz dieser Interaktionen nicht so gut abschätzen kann (25).

Auch in der Deutschen Apotheker Zeitschrift werden diese Interaktionen kritisch diskutiert, da es nur einzelne Studien zu der jeweiligen Wechselwirkung gibt und diese Studien sogar je nach Design kontrovers ausgefallen sind (26). Des Weiteren sollte man bei Phytopharmaka immer im Hinterkopf behalten, dass die Ergebnisse sehr spezifisch für das untersuchte Produkt sind und die gewonnenen Daten nur bedingt Rückschlüsse auf Produkte anderer Hersteller zulassen (26).

3. Verwendete Materialien

3.1. Wirkstoff: Ginseng-Trockenextrakt

Laut Definition des Europäischen Arzneibuchs wird Ginseng-Trockenextrakt aus der Ginsengwurzel (Ginseng radix) hergestellt. Die Ginsengwurzel, die der pharmazeutischen Qualität des Europäischen Arzneibuchs entspricht, stammt von der Pflanze Panax Ginseng. Die Wurzel muss einen Gehalt von mindestens 4,0% Ginsenoside (Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1, Rg2), berechnet als Ginsenosid Rb1, aufweisen. Das Pulver hat eine hellbräunliche bis gelbe Farbe und ist hygroskopisch (27).

In dieser Arbeit wurde ein pulverförmiger Trockenextrakt des Roten Panax Ginseng verwendet.

Frau Mag. Dekić hat den Kontakt zur Firma KGV Korea Ginseng Vertriebs GmbH (Lohmar, DE) hergestellt und den Extrakt von dort bezogen. Laut Etikett stammt der Trockenextrakt von der Firma HWI development GmbH (Appenweier, DE) und laut Kenntnisstand von Frau Mag. Dekić enthält dieser Extrakt 14-16% Ginsenoside. Somit entspricht der Extrakt pharmazeutischen Qualitätsstandards des Deutschen und des Europäischen Arzneibuchs. Als Auszugsmittel wurde für diesen Extrakt 60% Ethanol (v/v) verwendet und das Droge-Extrakt-Verhältnis beträgt 3-4:1 (5).

3.2. Hilfsstoffe

3.2.1. Mittelkettige Triglyceride

Mittelkettige Triglyceride sind besser unter dem Synonym Neutralöl bekannt, oder werden häufig in Publikationen als MCT (=medium-chain triglycerides) abgekürzt. Sie können synthetisch oder halbsynthetisch aus Kokos- oder Palmkernöl hergestellt werden. Diese Öle werden zuerst hydrolytisch gespalten und mithilfe von fraktionierter Destillation gewinnt man daraus dann mittelkettige gesättigte Fettsäuren. Um das Endprodukt zu erhalten, werden diese gewonnenen Fettsäuren anschließend mit Glycerol verestert (10).

Laut Europäischem Arzneibuch sind Mittelkettige Triglyceride, Gemische, die Großteils aus Capryl- (C₈) und Caprinsäuren (C₁₀) bestehen. Um pharmazeutischer Qualität zu entsprechen, muss das MCT einen Gehalt von mindestens 95% gesättigte Fettsäuren aufweisen (28).

Da MCT also so gut wie keine ungesättigten Fettsäuren beinhaltet, ist es nur wenig oxidationsempfindlich. Die Mittelkettigen Triglyceride werden gerne bei der Herstellung

von Nanoemulsionen als Bestandteil der Ölphase verwendet, da in der Vergangenheit beobachtet werden konnte, dass sich viele Wirkstoffe sehr gut darin lösen. Es kommen aber noch weitere Triglyceride bei der Herstellung von Nanoemulsionen zum Einsatz. Die kurzkettigen SCT (=short-chain triglycerides) oder langkettigen LCT (=long-chain triglycerides) wären hier zu nennen (29, 30).

Ein Forschungsteam, das Nanoemulsionen mit Curcumin hergestellt hat, konnte mit MCT und LCT stabile Nanoemulsionen generieren (31). Die alleinige Verwendung von SCT als Ölphase konnte jedoch keine stabilen Nanoemulsionen hervorbringen. Das kann damit begründet werden, dass SCT eine höhere Wasserlöslichkeit aufweist und deshalb anfälliger für Ostwaldsche Reifung ist. Des Weiteren konnten die Forschenden beobachten, dass MCT dem LCT überlegen war, da die Bioverfügbarkeit des Modellstoffs Curcumins mit MCT am höchsten war (31).

In dieser Arbeit wurden mittelkettige Triglyceride (CAS: 73398-61-5) von der Firma Herba Chemosan Apotheker-AG (Wien, AT) verwendet.

3.2.2. Lezithine

Die Gewinnung von Lezithin erfolgt meist aus Eigelb oder Sojabohnen. Lezithin besteht aus einem Gemisch von unterschiedlichen Phospholipiden. Es ist allgemein bekannt, dass Phospholipide die Hauptbestandteile der menschlichen Zellmembranen darstellen. Chemisch gesehen besteht Lezithin hauptsächlich aus Phosphatidylcholin. Abgesehen davon beinhaltet Lezithin aber auch andere Phospholipide wie zum Beispiel das Phosphatidylethanolamin oder das Phosphatidylinositol (11).

In Publikationen liest man selten den Begriff Lezithin, stattdessen wird meist der Begriff Phosphatidylcholin, abgekürzt als PC, synonym für Lezithin verwendet. Die Struktur von Phosphatidylcholin ist in Abbildung 4 zu sehen. Man erkennt, dass es sich bei dieser Substanz um eine amphiphile Verbindung handelt und genau aus diesem Grund ist Lezithin so vielfältig einsetzbar. Als Vorteile von Lezithin wären die biologische Abbaubarkeit und die sehr gute Verträglichkeit bei topischer Anwendung zu nennen. In der Lebensmittel- und Kosmetikindustrie kann die Anwendung von Lezithin uneingeschränkt stattfinden, da Lezithin den GRAS-Status (=generally accepted as safe) besitzt (30).

Auch in der pharmazeutischen Industrie ist Lezithin ein sehr populärer Hilfsstoff. Mithilfe von Lezithin können dermale Produkte wie O/W-, W/O-, oder Doppelemulsionen hergestellt werden (32).

Lezithin kommt aber auch bei oralen Arzneiformen wie Tabletten, Kapseln oder Suspensionen bzw. Emulsionen zum oralen Gebrauch zum Einsatz. Auch bei Suppositorien und Parenteralia werden Lezithine als Hilfsstoffe häufig verwendet. Um Lezithin als Hilfsstoff bei Parenteralia zu verwenden, muss es jedoch sehr stark aufgereinigt werden und sollte einen hohen Anteil an Phosphatidylcholin aufweisen (11).

Ein Derivat des PCs, dass an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben darf, ist Lysolezithin. Lysolezithin stellt eine enzymmodifizierte Variante des Lezithins dar und wird meist als LPC, das für Lysophosphatidylcholin steht, abgekürzt. LPC weist im Vergleich zu Lezithin eine schlechtere Verträglichkeit auf, da es Mizellen ausbilden kann und infolgedessen hämolytisch wirkt (33).

Um Lysolezithin aus Lezithin zu erhalten, wird ein Acylrest mithilfe von Phospholipasen (A_1 , A_2 , B, LCAT) abgespalten (32). Daraus resultiert eine hydrophilere Struktur, die Ursache für die geringere Stabilität des LPCs im Gegensatz zu PC sein könnte, jedoch besitzt LPC eine höhere Emulgierfähigkeit (32).

Eine Forschung aus dem Jahre 2019 hat gezeigt, dass Nanoemulsionen mit LPC während der Lagerung deutlich instabiler als Nanoemulsionen mit PC waren (34). Ein Faktor, der in diesem Zusammenhang eine große Rolle spielen könnte, ist die Lagertemperatur. Bei Temperaturen um 4°C kam es zu einem größeren Teilchenwachstum als bei Temperaturen um 37°C . Eine mögliche Begründung für dieses Phänomen wäre, dass niedrige Temperaturen ein Kristallwachstum befördern (34).

Eine Forschung aus dem Jahr 2002 hat gezeigt, dass bei der Emulsionsherstellung eine Kombination von zwei Lezithinen vorteilhaft sein kann (35). Es wurde Phosphatidylcholin und ein hydrophileres Derivat von PC, das sogenannte 2-Hexanoyl-Phosphatidylcholin, verwendet. Mit dieser Emulgator-Kombination konnte eine geringere Partikelgröße erzielt werden und daraus resultierte eine höhere Stabilität für die hergestellten Emulsionen. Den genauen Mechanismus, der dieser Stabilisierung zu Grunde liegt, konnte man noch nicht entschlüsseln. Jedoch ist bereits klar, dass mehrere Faktoren zusammenspielen, wie zum Beispiel die vorliegende Oberflächenladung, aber auch elektrische- und mechanische Barrieren, die durch Emulgatoren in Emulsionen induziert werden (35).

In dieser Arbeit wurden Lezithin Lipoid S 75 (CAS: 8030-76-0) und Lysolezithin Lipoid S LPC 65 von der Firma Lipoid (Ludwigshafen, DE) bezogen. Beide Substanzen

werden aus Sojabohnen gewonnen. Beim Lipid S 75 handelt es sich um Phospholipide mit 70% Phosphatidylcholin als Hauptkomponente. Das Lipid S LPC 65 weist einen Gehalt von 65% Lysophosphatidylcholin als Hauptkomponente auf.

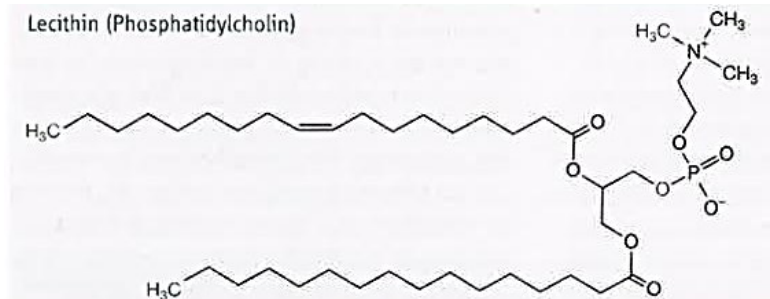


Abbildung 4: Phosphatidylcholin (33)

3.2.3. Polysorbate

Polysorbate sind chemisch gesehen Polyoxyethylensorbitanfettsäureester und werden im Handel auch unter dem Namen Tween® geführt. In der Pharmazie werden vor allem die Polysorbate 20, 40, 60 und 80 eingesetzt. Diese vier Gruppen haben als Gemeinsamkeit, dass sie alle etwa 20 Ethylenoxidgruppen in ihrer Struktur tragen (11). Die Unterschiede der Polysorbate zeigen sich anhand der verwendeten Fettsäure, die durch die erste Zahl angegeben wird und den Grad der Veresterung, der durch die zweite Zahl gekennzeichnet ist. Die Säuren, die am häufigsten verwendet werden, sind Laurinsäure=2, Palmitinsäure=4, Stearinsäure=6 und Ölsäure=8. Beim Veresterungsgrad findet man am häufigsten die Zahl 0. Sie bedeutet, dass es sich um einen Monoester mit 20 Polyoxyethyleinheiten handelt (36).

Als Emulgatoren kommen Polysorbate in dermalen Arzneiformen wie zum Beispiel in Cremes vor, aber auch bei der Herstellung von Tabletten, Suspensionen oder Parenteralia stellen sie eine wichtige Hilfsstoffgruppe dar. Bei Arzneiformen, die Proteine beinhalten verwendet man häufig Polysorbat 20 und 80, da diese Stoffe Oberflächenadsorption und Aggregation der Proteine verhindern. Alle Polysorbate neigen zur Oxidation und deshalb sollte man sie rasch verarbeiten und vor allem bei der Lagerung auf Lichtschutz achten (11).

3.2.3.1. Polysorbat 80

Polysorbat 80 gehört zur Gruppe der nichtionischen Tenside und wird in der Pharmazie sehr vielfältig als Emulgator eingesetzt. In Abbildung 5 ist die Struktur dieser Substanz

zu sehen. In dermalen Formulierungen kommt Polysorbat 80 als O/W-Emulgator allein oder in Kombination mit W/O-Emulgatoren zum Einsatz. Polysorbat 80 wird als Lösungsvermittler für wenig oder nicht wasserlösliche Stoffe verwendet. Des Weiteren kommt es bei Suspensionen als Netzmittel zum Einsatz. Polysorbat 80 ist praktisch reizlos und deshalb gut verträglich. Der LD₅₀-Wert für Mäuse liegt bei peroraler Verabreichung bei 7,5 ml pro kg Körpergewicht und Polysorbat 80 gilt infolgedessen als sehr wenig toxisch. Nachteile sind neben der bereits erwähnten Oxidationsneigung, dass die Substanz einige Inkompatibilitäten mit Stoffgruppen wie Tanninen oder Phenolen aufweist. Besonders bei Konservierungsmitteln kommen häufig phenolische Verbindungen zum Einsatz wie zum Beispiel para-Hydroxybenzoesäureester. Dieses Konservierungsmittel sollte aufgrund der Inkompatibilität nicht in Formulierungen, die Polysorbat 80 beinhalten, verwendet werden (32).

Polysorbat 80 (CAS: 9005-65-6) wurde für diese Arbeit von der Firma Sigma-Aldrich (St. Louis, US) bezogen.

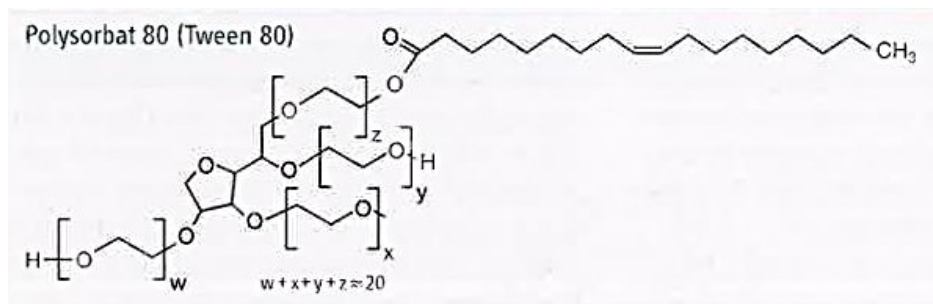


Abbildung 5: Polysorbat 80 (33)

3.2.4. Zuckerester

Die Zuckerester, oder genauer gesagt die Saccharose bzw. Sucroseester, gehören zur Gruppe der nichtionischen Emulgatoren. Sie bestehen aus Saccharose und natürlichen Fettsäuren, die unterschiedliche Grade von Veresterung aufweisen. Üblicherweise liegt die Kettenlänge der verwendeten Fettsäuren zwischen C₁₂ und C₂₂ und der Substitutionsgrad befindet sich zwischen 1 und 8. Daraus resultieren HLB-Werte von 1-16 und somit sind diese Stoffe sehr vielfältig einsetzbar, da mit ihnen unterschiedliche Polaritätsgrade abgedeckt werden können. Die Hautverträglichkeit der Zuckerester ist allgemein sehr gut. Zudem sind sie Großteils geruchs- und geschmacksneutral und weisen keine Toxizität auf. Die Fettsäuren, die in den Zuckerestern enthalten sind, sind normalerweise Mischungen. Namensgebend für die Substanz ist die Fettsäure, die den Hauptbestandteil ausmacht. In der Pharmaindustrie

kommen am häufigsten Derivate der Laurin-, Palmitin-, und Stearinsäure zum Einsatz (33).

In dieser Arbeit wurde „Sucrose Fatty Acid Ester“ mit der Bezeichnung D-1809 von der Firma Surfhope™ Se Pharma (Tokio, JP) verwendet. Die Bezeichnung D-1809 setzt sich aus mehreren Komponenten zusammen: das „D“ beschreibt den kosmetischen Grad, also die Qualität der Substanz, „18“ kennzeichnet die Kettenlänge der Kohlenstoffatome der Fettsäure, hier die Stearinsäure, und „09“ gibt den HLB-Wert des Emulgators an (37). In Abbildung 6 ist ein Zuckerester der Stearinsäure zu sehen.

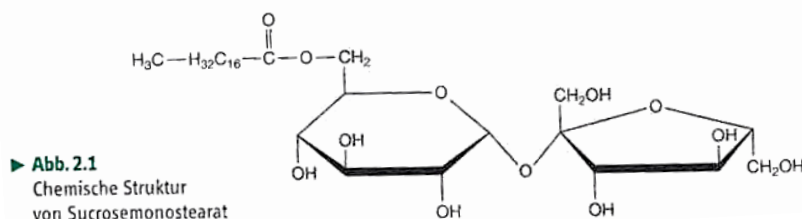


Abbildung 6: Sucrosemonostearat (33)

3.2.5. Kaliumsorbit

Ohne Einsatz von Konservierungsmitteln kommt es bei Dermatika zu Keimwachstum und mikrobieller Zersetzung von Inhaltsstoffen. Somit können Stoffe als Spaltprodukte entstehen, die hautreizende Eigenschaften aufweisen. Des Weiteren kann es zu Produktveränderungen kommen, die Aussehen, Geruch und Wirkung beeinflussen. Um all das zu verhindern, kommen Konservierungsstoffe zum Einsatz. Es gibt aber einige Aspekte, die bei der Auswahl des Konservierungsmittels von Bedeutung sind. Toxizität, Hautverträglichkeit, chemische Stabilität, Löslichkeit und Wirksamkeit müssen bedacht werden. Die antimikrobielle Wirkung erhöht sich mit steigender Konzentration des Konservierungsstoffes. Jedoch steigt durch Verwendung von höheren Konzentrationen auch das allergene Potential (30). Es werden chemisch gesehen sehr unterschiedliche Stoffe zur Konservierung eingesetzt. Alle haben als Gemeinsamkeit, dass sie nur antimikrobiell wirken können, wenn sie in undissoziierter Form vorliegen, da Ionen nicht in Bakterienzellen eindringen können. Bei den Nanoemulsionen dieser Arbeit wurde Kaliumsorbit als Konservierungsmittel verwendet. Kaliumsorbit ist das Kaliumsalz der Sorbinsäure und wirkt nur antimikrobiell, wenn es als Säure vorliegt. Deshalb sollte der pH-Wert der Formulierung idealerweise zwischen 4 und 5 oder jedenfalls im sauren Bereich liegen.

Man sollte auch beachten, dass Sorbinsäure Kontaktallergien auslösen kann. Die höchstzulässige Konzentration dieser Substanz liegt bei 0,6% (30).

Kaliumsorbit (CAS: 24634-61-5) wurde für diese Arbeit von der Firma Sigma-Aldrich (St. Louis, US) bezogen.

4. Verwendete Methoden

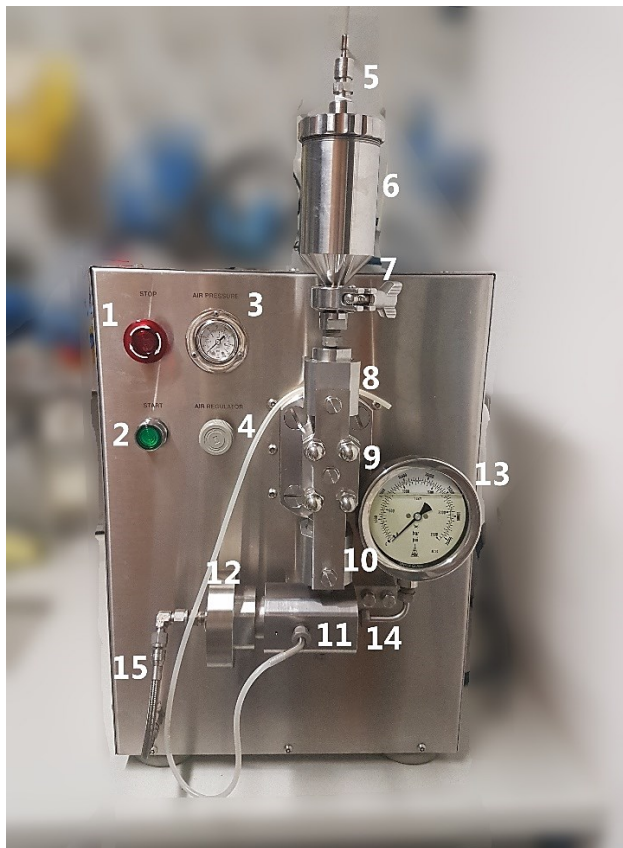
4.1. Hochdruckhomogenisation

Man teilt die zahlreichen Methoden, mit denen man Emulsionen herstellen kann, in High- und Low-Energy-Methoden ein (29).

Die Hochdruckhomogenisation, abgekürzt als HDH, zählt dabei zu den High-Energy-Methoden. Das Gerät, das für diese Methode verwendet wird, ist ein Homogenisator vom Kolben/Spalt-Typ und besteht aus einer Hochdruckpumpe und einer Hochdruckdispergiereinheit. Es gibt unterschiedliche Hochdruckpumpen, die sich anhand der Kolbenanzahl unterscheiden. In den Geräten werden üblicherweise ein- bis dreikolbige Pumpen verwendet. Auch bei den Dispergiereinheiten gibt es unterschiedliche Bauweisen. Hier unterscheidet man zwischen Radialdiffusoren, Gegenstrahldispergatoren und Düsenaggregaten, die axial durchströmt werden. Des Weiteren ist die Hochdruckhomogenisation durch das entstehende Produkt gekennzeichnet, das einen mittleren Tropfendurchmesser von $<0,2\ \mu\text{m}$ aufweisen kann (38, 39). Um so kleine Durchmesser zu erzeugen, wirken hier neben einem hohen Druck im Gerät sehr viele unterschiedliche Kräfte wie turbulente Scher- und Trägheitskräfte, laminare Scherkräfte und die sogenannte Kavitation. Der Begriff der Kavitation beschreibt die Bildung von Gas bzw. Dampf gefüllten Hohlräumen in Flüssigkeiten. Dieser Vorgang ist dadurch gekennzeichnet, dass der statische Druck zuerst absinkt, bevor er dann wieder ansteigt. Bei diesem Anstieg kommt es schließlich zur Implodierung der Bläschen und dies resultiert in der Erzeugung von starken Druckwellen. Diese Druckimpulse sind dann für die Tropfenzerkleinerung maßgeblich. Da es sich bei der Hochdruckhomogenisation um eine kontinuierliche Methode handelt, wird sie sehr oft in der Industrie eingesetzt, denn es können damit hohe Durchsätze erzielt werden (38, 39).

Wichtig ist hierbei zu beachten, dass die Tropfengrößenverteilung von der Scherrate, dem Scherstress, den verwendeten Tensiden und der Viskosität der Phasen abhängig ist (29).

Für die Herstellung der Nanoemulsionen dieser Arbeit wurde der Hochdruckhomogenisator Emulsiflex C3 von der Firma Avestin (Mannheim, DE) verwendet, der in der Abbildung 7 dargestellt ist. Mit diesem Hochdruckhomogenisator kann man einen Druck von bis zu 2000 bar erzeugen. Die Proben sollten ein Mindestvolumen von 10 ml aufweisen und eine maximale Durchflussrate von 3 Liter pro Stunde kann mit diesem Gerät laut Hersteller erzielt werden (40).



- 1 STOP Knopf
- 2 START Knopf
- 3 Druckanzeige für den Luftdruck
- 4 Luftdruckregler
- 5 Füllanlage für die Probe
- 6 Probenzylinder aus Edelstahl
- 7 Einlass
- 8 Rückschlagventil für den Einlass
- 9 Pumpkörper
- 10 Rückschlagventil für den Auslass
- 11 Schlauch + homogenisiertes Produkt
- 12 pneumatisch kontrollierter Zylinder
- 13 Druckanzeige für Homogenisation
- 14 Auslassventil
- 15 pneumatisch kontrollierter Luftzufuhrschlauch

Abbildung 7: Hochdruckhomogenisator Emulsiflex C3, Firma Avestin

4.2. Dynamische Laserlichtstreuung

Eine populäre Methode, um Nanoemulsionen zu charakterisieren, ist die dynamische Laserlichtstreuung, die oft als DLS abgekürzt wird und auch Photonenkorrelationsspektroskopie genannt werden kann. Mit ihr lässt sich die durchschnittliche Partikelgröße als hydrodynamischer Durchmesser bestimmen und auch der Polydispersitätsindex kann mit dieser Methode ermittelt werden (41).

Die wichtigsten Bestandteile eines DLS-Messinstruments sind der Laser, der als Lichtquelle fungiert; die Linse, die den Laser auf den zu messenden Bereich fixieren soll, und der Detektor, meist ein Photodioden-Detektor, der die Streulichtintensität in ein elektrisches Signal umwandelt. Die Funktionsweise der DLS basiert im Allgemeinen auf der Brown'schen Molekularbewegung, da Partikel in Flüssigkeiten diesem Prinzip folgen. Wenn der Laser auf die Partikel trifft, wird das Laserlicht gestreut. Kleine Partikel bewegen sich im Gegensatz zu größeren Partikeln schneller in der Flüssigkeit, da sie weniger Reibung erfahren und somit verursachen kleinere Partikel schnellere Streulicht-Fluktuationen (=Schwankungen des Streulichts), während größere Partikel durch eine langsamere Fluktuationsrate gekennzeichnet sind. Diese unterschiedlichen Interferenzmuster können nun mithilfe einer

Autokorrelationsfunktion ausgewertet werden. Eine sogenannte kumulative Analyse wird durchgeführt und liefert Rückschlüsse zu Partikelgröße und der Teilchengrößenverteilung der Partikel innerhalb der Probe (41).

Als DLS-Messgerät diente uns der Zetasizer® Nano der Firma Malvern Instruments Panalytical Ltd. (Malvern, UK).

4.2.1. Hydrodynamischer Durchmesser

Der hydrodynamische Durchmesser, auch hydrodynamischer Radius genannt, ist der Durchmesser einer Sphäre, die den gleichen Diffusionskoeffizienten wie der zu messende Partikel besitzt (41).

Im Allgemeinen wird der hydrodynamische Durchmesser mithilfe der Stokes-Einstein Gleichung berechnet. Dafür müssen aber die Viskosität und der Diffusionskoeffizient des Stoffes im wässrigen Medium bekannt sein (42).

Beim Zetasizer® wird dieser Parameter „Z-average diameter“ genannt. Die Firma Malvern macht auf ihrer Website darauf aufmerksam, dass es einige Voraussetzungen gibt, die erfüllt werden müssen, damit man diesen Parameter mit anderen Größenmessungen vergleichen kann. Zum einen muss es sich bei der Probe um eine monodisperse Probe handeln, d. h. die Partikel in der Dispersion müssen eine sehr schmale Partikelgrößenverteilung aufweisen. Des Weiteren können nur Partikel, die sich in Dispersionen oder Lösungen befinden, gemessen werden und man sollte zusätzlich im Hinterkopf behalten, dass Veränderungen wie zum Beispiel eine kleine Menge von Aggregaten in der Probe das Ergebnis stark verfälschen können (43).

Wie bereits in Kapitel 2.2 – Nanoemulsionen erwähnt wurde, strebte man für die Nanoemulsionen dieser Arbeit einen Z-average diameter zwischen 100 und 150 nm an.

4.2.2. Polydispersitätsindex

Ein ebenfalls sehr wichtiger Parameter, den man mit der DLS-Methode messen kann, ist der sogenannte Polydispersitätsindex, abgekürzt als PDI. Dieser dimensionslose Index weist Werte zwischen 0,0 und 1,0 auf und wird benötigt, um festzustellen, ob eine Probe überhaupt für die DLS-Methode geeignet ist. Malvern definiert auf seiner Homepage Werte zwischen 0,05 und 0,7 als DLS-tauglich. Werte über 0,7 deuten darauf hin, dass die Probe zu polydispers ist, also eine zu hohe

Partikelgrößenverteilung aufweist und Werte unter 0,05 sind abgesehen von stark monodispersen Standards nicht wirklich zu finden (43).

In der Praxis gelten PDI-Werte $\leq 0,2$ als akzeptabel (44).

4.3. Laser-Doppler-Elektrophorese

Die Laser-Doppler-Elektrophorese, auch Laser-Doppler-Anemometrie genannt, wird verwendet, um die elektrophoretische Mobilität von Partikeln in Dispersionen zu messen. Diese Messmethode basiert auf dem Doppler-Effekt, der durch eine Frequenzverschiebung gekennzeichnet ist. Diese Verschiebung tritt auf, wenn ein Laserstrahl auf einen Festkörper trifft und dieser Festkörper sich abhängig von der Lichtquelle bewegt. Bei der Laser-Doppler-Elektrophorese wandern die Partikel im elektrischen Feld und werden von einem Laserstrahl getroffen und dadurch zur Lichtstreuung angeregt. Die Frequenz des gestreuten Lichts hat eine andere Frequenz als die des eingestrahlten Laserstrahls. Mithilfe von Formeln kann man von der Frequenzverschiebung auf die Partikelgeschwindigkeit schließen, da die Frequenzverschiebung eine Funktion der relativen Geschwindigkeit zwischen streuenden Teilchen und Detektor ist (45).

Wenn man die elektrophoretische Mobilität, die Feldstärke des elektrischen Feldes und die Viskosität der Probe kennt, kann man daraus das Zetapotential mithilfe der Henry-Gleichung berechnen. Die Henry Gleichung lautet $\mu_e = \frac{2 \cdot \epsilon_r \cdot \epsilon_0 \cdot \zeta \cdot f(Ka)}{3\eta}$. μ_e steht für die elektrophoretische Mobilität, die man berechnen möchte. ϵ_r stellt die Dielektrizitätskonstante dar, ϵ_0 die Permittivität des Vakuums (auch elektrische Feldkonstante genannt), ζ das Zetapotential, $f(Ka)$ die Henryfunktion und η die Viskosität des Mediums bei der Temperatur, bei der das Experiment stattfindet (46).

4.3.1. Zetapotential und Leitfähigkeit

Es besteht eine direkte Korrelation zwischen der Oberflächenladung von Nanoemulsionstropfen und deren Stabilität. Deshalb wird bei Formulierungsentwicklungen das Zetapotential gerne herangezogen, um die Stabilität der Nanoemulsionen über einen bestimmten Zeitraum zu überwachen (29).

Doch was ist dieses Zetapotential? Ionen (zum Beispiel H^+) des Suspensionsmediums lagern sich an die Teilchen der Suspension an, um die negativen Ladungen der Teilchenoberfläche (=Nernst-Potential) zu kompensieren. Somit wirken die Teilchen in der Suspension nach außen hin neutral. In Wahrheit entsteht aber eine Doppelschicht,

innen als Stern Region bezeichnet, die festgebundene Ladungen aufweist; sowie eine äußere diffuse Schicht, die aus locker gebundenen Gegenladungen besteht. Wenn man jetzt ein elektrisches Feld anlegt, so wie bei der Laser-Doppler-Elektrophorese, kommt es durch die Diffusionsbewegung der Teilchen zu einer partiellen Abscherung der äußeren Schicht. Durch das Entfernen der Gegenionen wird das negative Potential nun nicht mehr ausgeglichen. Das Potential, dass sich jetzt an der Scherebene bildet, nennt man Zetapotential. Schon 1968 nahm Riddick eine Einteilung der Stabilität von Dispersionen anhand des Zetapotentials vor (47). In dieser Einteilung galten Dispersionen, die ein Zetapotential von mindestens -31 mV aufwiesen als frei von Agglomeraten und ab einem Potential von -41 mV charakterisierte er die Dispersionen als stabil. Bei O/W-Emulsionen ist die alleinige Charakterisierung der physikalischen Stabilität durch die elektrostatische Abstoßung aber nicht aussagekräftig. Das verwendete Tensid bzw. die Festigkeit des Tensidfilms ist ebenfalls eine sehr wichtige Komponente für die physikalische Stabilität. Tropfen, die eine hohe Festigkeit in ihrem Tensidfilm aufweisen, prallen nach Zusammenstoß voneinander ab und neigen deshalb viel weniger zu Koaleszenz. Es zeigte sich, dass O/W-Emulsionen schon ab einem Wert von -30 mV über einen längeren Zeitraum stabil sind (47).

Auch in Forschungen wurde mehrfach bewiesen, dass Werte ab ± 30 mV einen Indikator für stabile Nanoemulsionen darstellen (48, 49).

Auch wichtig zu erwähnen ist an dieser Stelle, dass das Zetapotential nur dann sinnvoll über einen längeren Zeitraum bestimmt werden kann, wenn die Konzentration und Art der Elektrolyte im Dispersionsmedium konstant sind (47).

Deshalb haben wir für unsere Messungen immer eine Verdünnung von 1:100 (v/v) gewählt und möglichst frisch destilliertes Wasser verwendet. Zusätzlich zur Kontrolle, ob das Wasser einen negativen Einfluss auf die Messungen hat, d. h. ob die Messwerte aufgrund der variablen Leitfähigkeit des Wassers schwanken, haben wir an einigen Messpunkten zusätzliche Messungen mit einer wässrigen 0,1 mM NaCl-Lösung als Verdünnungsmedium durchgeführt. Das Ziel war eine konstante Leitfähigkeit von unter 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$ zu erhalten.

Zur Bestimmung des Zetapotentials und der Leitfähigkeit der Nanoemulsionen wurde wieder das Nano ZS Gerät der Firma Malvern Instruments Panalytical Ltd. (Malvern, UK) verwendet.

4.4. pH-Messung

Der pH-Wert von wässrigen Lösungen wird als negativer Logarithmus der Aktivität der Hydroxonium-Ionen definiert und stellt die Konzentration der OH⁻-Ionen in eben diesen Lösungen dar. Eine empirische pH-Skala von 0-14 wird verwendet, um die Werte in der Praxis besser einordnen zu können. In dieser Skala gelten pH-Werte zwischen 6 und 8 als neutral. Alle Werte, die sich zwischen 4 und 6 befinden, werden als schwach sauer definiert, alles unter pH 4 gilt als stark sauer. Am anderen Ende der Skala werden alle Werte, die zwischen 8 und 10 liegen, als schwach alkalisch charakterisiert und Werte über pH 10 als stark alkalisch bezeichnet. Der pH-Wert wird potentiometrisch mithilfe von zwei Elektroden bestimmt. Dabei handelt es sich bei der einen Elektrode um eine OH⁻-Ionen empfindliche Elektrode und bei der anderen um eine Bezugselektrode (50).

Da in dieser Arbeit topische Formulierungen für die Haut hergestellt und vermessen wurden, müssen die Ergebnisse bezogen auf den pH-Wert der Haut interpretiert werden. Der pH-Wert der Haut liegt wie in Kapitel 1 erwähnt, zwischen 4,2 und 5,6 (7). Eine dermale Formulierung gilt also als hautfreundlich bzw. gut hautverträglich, wenn ihr pH-Wert um pH 5 herum liegt.

Alle pH-Messungen wurden mit dem SevenCompact™ pH-Meter der Firma Mettler Toledo (Ohio, US) durchgeführt. Vor den Messungen wurde das Gerät stets mit zwei unterschiedlichen Puffer-Lösungen (pH 4,01 und pH 7,00) von der Firma Thermo Fisher Scientific (Chelmsford, US) bei Raumtemperatur (25°C) kalibriert. Für die Lagerung der Elektrode des pH-Meters wurde eine Kaliumchlorid-Lösung, 3 mol/L [75-90% deionisiertes Wasser (CAS: 7732-18-5) mit 10-20% Kaliumchlorid (CAS: 7447-40-7)] verwendet.

4.5. Rheologie

4.5.1. Begriffe und Definitionen

Die Fließeigenschaften von Stoffen werden durch die Rheologie charakterisiert. Besonders für die Formulierungsentwicklung von Arzneiformen ist die Rheologie sehr bedeutend. Zur Darstellung von rheologischen Messungen werden Fließkurven genutzt. Die häufigste Darstellungsform ist das Auftragen der Viskosität $[\eta]$ auf der y-Achse und der Scherrate $[\gamma]$ auf der x-Achse was einer Viskositätskurve entspricht. Damit Stoffe fließen können, müssen sie eine innere Reibung überwinden. Deshalb wird die Viskosität oft als Widerstand, den Substanzen dem Fließen entgegensetzen

müssen, charakterisiert. Häufig findet man auch die Bezeichnung der dynamischen Viskosität in Lehrbüchern und Publikationen. Die dynamische Viskosität ist als Quotient von Schubspannung und Scherrate definiert. Die Einheit der Viskosität wird üblicherweise in Pascalsekunden [Pas] angegeben, jedoch wird für sehr niederviskose Flüssigkeiten wie Nanoemulsionen häufig die Einheit Millipascalsekunde [mPas] verwendet (10, 51, 52). Es gibt einige Parameter, die die Viskosität beeinflussen. Besonders in Zusammenhang mit der zu messenden Substanz sollte man die Temperatur und die physikalisch-chemische Beschaffenheit der Substanz betrachten. Aber auch der Druck, der während der Messung herrscht, ist besonders bei sehr hohen Werten bedeutend, da es hier zu druckabhängigen Viskositätsänderungen kommen kann. Weitere Charakteristika sind die Scherrate, bei der gemessen wird und die Zeit. Beim Parameter Zeit ist die Scherzeit vor dem Versuch und die Ruhezeit nach dem Versuch zu beachten. Für manche Suspensionen ist das elektrische Feld, genauer gesagt die Stärke des elektrischen Feldes noch zusätzlich von Bedeutung. Die Scherrate trägt die Einheit [1/s], die als reziproke Sekunde bezeichnet wird. Sie wird durch die Gleichung $\gamma = \frac{v}{h}$, also Gamma-Punkt = Geschwindigkeit in Meter pro Sekunde [m/s] durch den Plattenabstand [h] in Meter, beschrieben. Für die Scherrate existieren zahlreiche Synonyme. Man nennt sie auch Schergeschwindigkeit, Schergefälle, Deformationsgeschwindigkeit sowie Deformationsrate. Eine weitere Darstellung von Fließkurven erfolgt über die Schubspannung $[\tau]$. Die Schubspannung wird auf der y-Achse gegen die Scherrate auf der x-Achse aufgetragen. Sie kann auch als Scherspannung bezeichnet werden und ist definiert als $\tau = \frac{F}{A}$, also Tau in Pascal [Pa] = Kraft in Newton [N] durch die Fläche in Quadratmeter [m²] (10, 51, 52).

4.5.2. Fließeigenschaften von Systemen

Idealviskoses Fließverhalten:

Alle Flüssigkeiten, die der nach Newton definierten Formel $\frac{F}{A} = \tau = \eta \frac{dv}{dh} = \eta D$ folgen, weisen laut Definition ein idealviskoses Fließverhalten auf. In der Formel ist $\frac{F}{A} = \tau$ die Schubspannung, η der Viskositätskoeffizient und $D = \frac{dv}{dh}$ beschreibt das Schergefälle. Wenn man das Schergefälle auf der y-Achse gegen die Schubspannung auf der x-Achse darstellt, resultiert daraus für idealviskose Flüssigkeiten eine Gerade. Die Steilheit der Gerade entspricht dem Fließvermögen, also der dynamischen Viskosität. Idealviskose Flüssigkeiten kann man experimentell mithilfe von Kapillar- oder

Kugelfallviskosimetern bestimmen. Das populärste Beispiel für eine idealviskose Flüssigkeit ist Wasser, aber auch Ethanol, Glycerol oder fette Öle weisen ein idealviskoses Fließverhalten auf (7, 10).

Nichtidealviskoses Fließverhalten:

Die meisten Flüssigkeiten weisen jedoch ein nichtidealviskoses und somit nicht lineares Fließverhalten auf. Sie ändern ihr Fließverhalten abhängig von der Scherbelastung. Man kann in dieser Gruppe drei verschiedene Typen unterscheiden: Stoffe mit pseudoplastischem, dilatantem oder plastischem Fließverhalten (7, 10). Beim pseudoplastischen Fließen, das auch scherverdünnend genannt wird, weist die Flüssigkeit eine zunehmende Fließfähigkeit bei steigender Scherbeanspruchung auf. Im Rheogramm sieht man anfänglich einen linearen Bereich, aber bei steigender Schubspannung ändert sich der Verlauf und resultiert in eine Kurve. Bei steigender Scherbeanspruchung wird das System also flüssiger. Beispiele für diesen Typ wären Suspensionen mit anisometrischen Teilchen oder kolloide Lösungen mit langkettigen Makromolekülen wie Cellulosederivate oder Pflanzenschleime. Wenn ein dilatantes Fließen vorliegt, kommt es genau zum gegenteiligen Effekt. In Bereichen, in denen die Schubspannung hoch ist, kommt es zu einer Fließverfestigung. Es bildet sich in diesem Bereich eine Gerade aus, dagegen in den niedrigeren Bereichen sieht man im Rheogramm eine Kurve. Suspensionen, die eine hohe Feststoffkonzentration, meist über 50%, aufweisen, besitzen ein dilatantes Fließverhalten (7, 10). Eine weitere Untergruppe des nichtidealviskosen Fließens stellt das plastische Fließverhalten dar. Körper, die als plastisch beschrieben werden, besitzen eine Fließgrenze. Damit diese Körper fließen können, muss diese Fließgrenze überwunden werden und dafür ist eine gewisse Schubspannung notwendig. Unterhalb dieser Grenze erscheinen plastische Körper als Feststoffe, das heißt sie bleiben stabil in ihrer Form. Oberhalb der Fließgrenze können die Körper unterschiedliche Formen annehmen. Man unterscheidet zwischen Bingham- und Casson-Körper. Bingham-Körper zeigen eine konstante Fließfähigkeit nach Überwindung der Fließgrenze. Sie verhalten sich also oberhalb der Fließgrenze idealplastisch und somit liegt hier eine Gerade wie bei den Newtonschen Körper vor. Dagegen weist eine Krümmung oberhalb der Fließgrenze auf einen Casson-Körper hin, der sich nichtidealplastisch verhält. Die meisten dermalen pharmazeutischen Formulierungen gehören zu den Casson-Körpern wie etwa Cremes, Gele oder Pasten. Alle oben genannten Fließverhalten sind als

Fließkurven in Abbildung 8 dargestellt. In der Abbildung sieht man in der linken Spalte, dass die Scherrate auf der x-Achse gegen die Schubspannung auf der y-Achse aufgetragen ist. Bei den Fließkurven der rechten Spalte ist die Schubspannung auf der x-Achse aufgetragen und die y-Achse zeigt die dynamische Viskosität (7, 10).

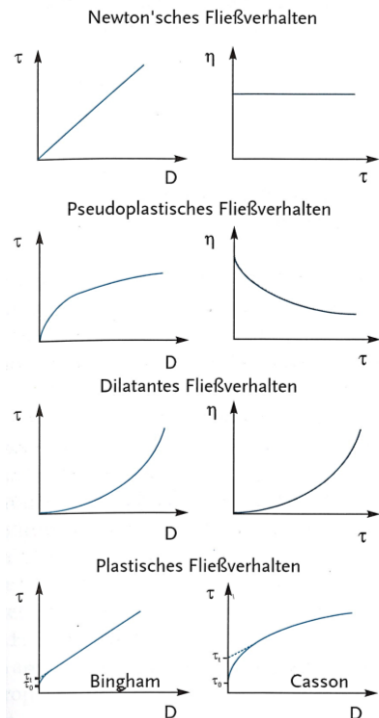


Abbildung 8: Fließverhalten (11)

Thixotropie:

Ein weiteres Phänomen, dass bei hoher Scherbelastung oft auftritt, ist die Viskositätserniedrigung, also eine Verflüssigung des Systems. Diese tritt auf, wenn innere Strukturen von Systemen, die dem plastischem oder pseudoplastischem Fließverhalten folgen, zerstört werden. Häufig ist dieser Effekt reversibel. Es dauert aber eine gewisse Zeit, bis sich die Strukturen im System wieder hergestellt haben. Dieses Phänomen nennt sich Thixotropie und ist abhängig von Stärke und Dauer der Scherbeanspruchung und erfolgt unter isothermen Bedingungen (7, 10).

Aufgrund der Thixotropie wurden die Emulsionen in dieser Arbeit nach der Herstellung für mindestens 12-24 h stehen gelassen, bevor sie vermessen wurden.

Rheodestruktion:

Der Vorgang, bei der die inneren Strukturen des Systems durch Scherbeanspruchung irreversibel zerstört werden, nennt man Rheodestruktion. Ein prominentes Beispiel dafür sind die Gelatinegele (7, 10).

Rheopexie:

Das Gegenteil der Thixotropie stellt die Rheopexie dar. Sie tritt bei Stoffen auf, die ein dilatantes Fließverhalten aufweisen. Bei diesem Phänomen kommt es zu einer Verfestigung des Systems, wenn über einen längeren Zeitraum eine hohe Scherbelastung auf das System einwirkt. Wie auch die Thixotropie ist dieses Phänomen reversibel und folgt isothermen Bedingungen. Auch hier stellt sich der Ausgangszustand nach einer gewissen Zeit wieder von selbst ein (7, 10).

4.5.3. Rotations- und Oszillationsversuche

Es gibt zwei unterschiedliche Arten von Messungen, die man mit einem Rheometer durchführen kann: Rotations- und Oszillationsmessungen. Die Rotationsmessung ist dadurch charakterisiert, dass es einen rotierenden Messkörper gibt und einen weiteren Messkörper, der statisch ist. Je nach System kann es sich bei dem statischen Körper um eine Messplatte oder einen Messzylinder handeln. Durch die Rotation bildet sich eine laminare Strömung im Scherspalt der Probe. Es gibt zwei Messoptionen wie man einen solchen Rotationsversuch gestalten kann. Bei der ersten Variante gibt man die Scherrate bzw. die Drehzahl vor. Diese Messmethode kommt besonders bei Flüssigkeiten ohne Fließgrenze zur Anwendung. Diese Art von Versuch wird auch als controlled-shear-rate-test oder CSR-Test bezeichnet. Die andere Variante kennzeichnet sich durch Vorgabe der Schubspannung, also des Drehmoments und wird auch controlled-shear-stress-test oder CSS-Test genannt. Diese Methode gilt als Standard, denn man kann mit ihr Fließgrenzen von Dispersionen, Pasten oder Gelen bestimmen (10, 51, 53). Allgemein kann man mithilfe von Rotationsmessungen Lösungen und Dispersionen charakterisieren, die eine komplexe Zusammensetzung haben und ein nichtidealviskoses Fließverhalten aufweisen. Die Oszillationsrheometrie wird hingegen verwendet, um viskoelastische Eigenschaften zu messen. Wie das Wort viskoelastisch schon suggeriert, besitzen halbfeste Arzneiformen einen viskosen und einen elastischen Anteil. Der Begriff viskos wird eigentlich zur Beschreibung von Flüssigkeiten verwendet, elastisch ist hingegen eine Bezeichnung, die zur Charakterisierung von Feststoffen herangezogen wird. Der Versuchsaufbau ist bei Oszillationsmessungen der Gleiche wie bei Rotationsmessungen. Es wird entweder die Scherrate oder die Schubspannung vorgegeben. Bei Oszillationsmessungen werden vom Messkörper sinusförmige Schwingungen ausgesendet und als Antwort auf diese Schwingungen misst man dann

die sogenannten Deformationsschwingungen, und nach welcher Zeit diese auftreten. Im Anschluss kann man dann diese Deformationsschwingungen analysieren und erhält den elastischen Anteil der Probe, der als Speichermodul berechnet wird und den viskosen Anteil der Probe, der das Verlustmodul darstellt (10, 51, 53).

4.5.4. Zylinder-Becher-Methode und Doppelspaltzylinder

Eine Methode, die zur Rotationsviskosimetrie zählt, ist die Zylinder-Becher-Methode. Sie eignet sich besonders gut für Proben, die niedrig bis mäßig viskos sind. Dieses Messsystem besteht aus einem Hohlzylinder, der als Becher fungiert und einem Vollzylinder, der in diesem Hohlzylinder eingebracht ist. Es gibt zwei unterschiedliche Messprinzipien, je nachdem welcher Zylinder während der Messung rotiert (10). Beim Searle-Prinzip befindet sich der innere Zylinder während dem Messvorgang in Bewegung. Durch diese Drehbewegung entsteht eine laminare Strömung im Ringspalt der Probe. Diese Strömung erreicht ihre maximale Geschwindigkeit am drehenden Zylinder, im Gegensatz dazu weist der stationäre Zylinder einen Nullwert auf. Die Schergeschwindigkeit ist in diesem Messsystem nicht konstant, sondern nimmt von innen nach außen ab. Umso kleiner die Spaltbreite des Ringspalts, desto geringer ist die Veränderung der Schergeschwindigkeit im System. Im Gegensatz dazu dreht sich beim Couette-Verfahren der „Becher“ während der Messung und mit einer Torsionsfeder wird das Drehmoment am inneren Zylinder gemessen. Ein Nachteil der Becher-Zylinder-Methode ist jedoch, dass man im Vergleich zur Kegel-Platte-Methode eine ziemlich große Probenmenge für dieses System benötigt (10).

Für niederviskose Flüssigkeiten, wie Nanoemulsionen, eignen sich die konzentrischen Zylinder, zu denen der Doppelspalt-Zylinder zählt, besonders gut. Bei diesem Messsystem gibt es in der Mitte des Bechers noch einen inneren Zylinder und somit bildet sich ein Hohlzylinder, zusätzlich zum Ringspalt im Querschnitt des Messbechers aus. Dieser Hohlzylinder hat nun den Vorteil, dass er eine vergrößerte Scherfläche aufweist, da es eine äußere und eine innere Oberfläche gibt. Für Messungen von niedrigen Drehmomenten, ist das Doppelspaltzylinder-System hervorragend geeignet. Auch die Temperierung ist bei diesem System vorteilhaft, denn sie kann über den äußeren oder den inneren Zylinder erfolgen. Der einzige Nachteil stellt die Reinigung des Hohlzylinders dar, die etwas mehr Zeit in Anspruch nimmt und schwieriger in der Handhabung ist als bei einem herkömmlichen Zylinder (51).

Alle Messungen in dieser Arbeit wurden mit dem Modular Compact Rheometer MCR 302 von der Firma Anton Paar GmbH (Graz, AT) durchgeführt. Es wurde die Zylinder-Becher-Methode mit einem Doppelspaltzylinder (DG 27) angewandt. Das verwendete Messsystem ist in Abbildung 9 dargestellt.



Abbildung 9: Rheometer MCR 302 von Anton Paar mit Doppelspaltzylinder-Messsystem

4.5.5. Rheologie von Nanoemulsionen

Wenn man Nanoemulsionen rheologisch vermessen will, muss man zahlreiche Faktoren berücksichtigen. Molekulare und kolloidale Interaktionen spielen eine große Rolle, sowie die Zusammensetzungen der Emulsionen und die Konzentrationen der einzelnen Phasen. Aber auch Grenzflächeneigenschaften, Herstellungsverfahren und Lagerbedingungen können die rheologischen Eigenschaften der Nanoemulsionen beeinflussen (54). Des Weiteren gilt die Faustregel: Je höher der Anteil der dispergierten Phase am Gesamtvolumen der Emulsion, desto höher ist die Viskosität. Aber auch die Teilchenkonzentration, die in der dispergierten Phase herrscht, ist von Bedeutung. Höhere Konzentrationen führen im Gegensatz zu niedrigeren Konzentrationen zu einem steileren Anstieg der Viskosität, da die Teilchen ab einer gewissen Konzentration sehr kompakt aneinander liegen. Diese Teilchenstruktur führt dann dazu, dass die Emulsion eine gelartige Konsistenz bekommt. Ein weiterer Parameter, der Einfluss auf die Viskosität hat, ist die Teilchengröße. Denn wie im Kapitel 2.2.4 - Stabilität von Nanoemulsionen bereits erwähnt, führen höhere Teilchengrößen vermehrt zu Instabilitäten. Besonders wenn es zu Aggregation,

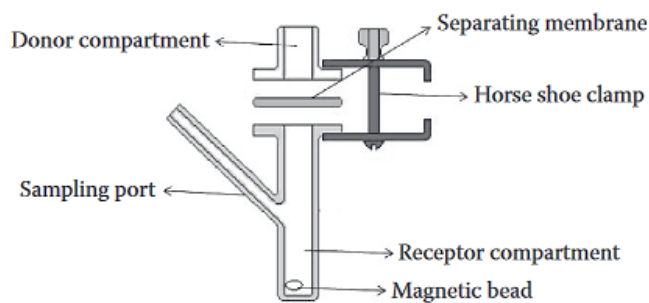
Koagulation oder Flokkulation der Teilchen kommt, resultiert daraus eine enorme Viskositätssteigerung, die bei den rheologischen Messungen ersichtlich ist (54).

4.6. Franz-Diffusionszelle

Um die Permeation eines Wirkstoffs durch die Haut zu erforschen, werden häufig Diffusionszellen verwendet. Mithilfe dieser Zellen will man die in vivo Konditionen der Wirkstofffreisetzung aus halbfesten Formulierungen so gut wie möglich nachstellen. Häufig werden Diffusionszellen nach Franz, die aus Glas bestehen, für diese Versuche verwendet. In Abbildung 10 ist eine solche Zelle dargestellt. Man kann erkennen, dass die Franz-Zelle zwei getrennte Kammern besitzt. Diese Kammern werden in der Fachsprache Donor- und Akzeptor-Kammer bzw. Donor- und Akzeptor-Kompartiment genannt und sind durch eine Membran voneinander getrennt. Die Probe wird auf einer Seite der Membran aufgetragen, diese Seite stellt nun die Donor-Kammer dar. Auf der anderen Seite der Membran, der Akzeptor-Kammer, befindet sich das sogenannte Akzeptormedium. Meist verwendet man als Akzeptormedium einen isotonischen Phosphatpuffer, der einen pH-Wert von 7,4 aufweist. Dieser Puffer sollte auf ca. 32°C temperiert werden, da dies die physiologische Temperatur der Hautoberfläche widerspiegelt. Bei herkömmlichen Franz-Zellen wird das Wasserbad, in dem sich die Zellen befinden, auf die gewünschte Temperatur erwärmt. Es gibt jedoch auch weiterentwickelte Franz-Zellen, die eine Ummantelung besitzen. Mithilfe dieses Mantels wird temperiertes Wasser direkt um das Innere der Zelle gepumpt und somit kann man diese Zellen noch exakter auf die gewünschte Temperatur einstellen. Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die konstante Durchmischung der Akzeptorlösung während des gesamten Versuchs. Damit diese Durchmischung erfolgen kann, wird ein Magnetührstäbchen in die Akzeptor-Kammer eingebracht. Als Membran kommt natürliche oder synthetische Haut zum Einsatz. Idealerweise sollte menschliche Haut für diesen Versuchsaufbau verwendet werden, jedoch wird in der Praxis aus ökonomischen und praktischen Gründen oft Schweinehaut eingesetzt (55, 56). In Kapitel 2.1.3. wurde die Eignung von Schweinehaut als in vitro Modell für menschliche Haut bereits diskutiert. Ein sehr wichtiger Aspekt ist bei diesem Versuch, dass man auf Sink-Bedingungen achtet, denn diese erleichtern die Auswertung der Daten enorm. Man spricht von Sink-Bedingungen, wenn der Arzneistoffgehalt im Donor-Kompartiment, während dem Versuch möglichst konstant bleibt. Wichtig ist zu bedenken, dass die Konzentration in der Akzeptor-Kammer 10% der

Sättigungskonzentration nicht überschreitet. Bei einem dynamischen Versuchsaufbau liegen so gut wie immer Sink-Bedingungen vor, da dieser dadurch gekennzeichnet ist, dass altes Akzeptormedium durch neues, frisches Medium ersetzt wird. Das hat den Vorteil, dass es zu keiner Rückdiffusion kommen kann. In der Abbildung 10 ist links ein Röhrchen mit einer Öffnung zu erkennen. Dieses Röhrchen wird verwendet, um in genau definierten Zeitabständen Proben aus dem Akzeptormedium zu ziehen und dem System wieder frisches Medium zuzuführen (55, 56).

Die Proben können dann mithilfe unterschiedlicher analytischer Methoden untersucht werden. Bei den Proben dieser Arbeit wurde UHPLC zur Quantifizierung der Wirkstoffe verwendet.



Franz diffusion cell

Abbildung 10: Aufbau einer Franz-Diffusionszelle (55)

4.7. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, die besser als HPLC (=high-performance liquid chromatography) bekannt ist, ist eine von vielen chromatographischen Methoden. Das Grundprinzip der Chromatographie basiert darauf, dass es eine stationäre und eine mobile Phase gibt. Die zu analysierenden Substanzen wandern mit der mobilen Phase an der stationären Phase vorbei und aufgrund ihrer Geschwindigkeiten und der Strecke, die sie jeweils zurücklegen, können die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Analyten ermittelt werden. Die Flüssigkeitschromatographie, auch mit LC (=liquid chromatography) abgekürzt, ist dadurch charakterisiert, dass die mobile Phase bei dieser Methode aus einer Flüssigkeit besteht (57). Die HPLC stellt eine Weiterentwicklung der LC dar und ist dadurch gekennzeichnet, dass die stationäre Phase aus kleineren Teilchen mit einem Größendurchmesser von nur 3-10 µm besteht. Diese kleinen Partikel führen zu einer effizienteren Trennung und die Trennleistung der Methode erhöht sich im Vergleich zur herkömmlichen LC. Jedoch steigt durch die kleine Partikelgröße auch der Rückdruck und deshalb werden Pumpen benötigt, die das Fließmittel mit hohem Druck (bis zu 400 bar) durch die Säule pressen. Bei der HPLC können unterschiedliche Detektoren zum Einsatz kommen. Ein populäres Beispiel wäre der UV/VIS-Detektor, aber auch photometrische- und elektrochemische Detektoren werden in der Praxis verwendet. Es ist zusätzlich auch eine Kopplung mit einem Massen-, IR-, oder NMR-Spektrometer möglich. Die HPLC wird in der pharmazeutischen Analytik vielfältig eingesetzt und vor allem ist sie bei thermolabilen Gemischen vorteilhaft. Es können aber grundsätzlich alle nichtflüchtigen Verbindungen mit ihr untersucht werden. In der Pharmazie sind Prüfungen auf Identität, Reinheit oder Gehaltsbestimmungen mit dieser Methode möglich (57).

In dieser Arbeit wurde mithilfe der HPLC-Methode der Gehalt der Ginsenoside und die Stabilität der Nanoemulsionen mit Ginseng bestimmt. Herr Dr. Ammar Tahir, MSc. von der Division für Pharmakognosie der Universität Wien hat dankenswerterweise die HPLC-Messungen durchgeführt. Das Gerät UHPLC Dionex Ultimate 3000 von der Firma Dionex (Sunnyvale, US) wurde mit der Säule Phenomenex™ Omega™ C18, 120 Å, 2,1 x 150 mm verwendet. Als Detektor diente der Massendetektor LTQ-XL™ (=linear ion trap mass spectrometer) von der Firma Thermo Fisher Scientific (Chelmsford, US).

4.8. Massenspektrometrie

Die Massenspektrometrie, abgekürzt als MS, wird vielfältig in der Pharmazie eingesetzt. Man kann mit dieser Methode Strukturaufklärung betreiben oder ein Stoffgemisch hinsichtlich seiner Komponenten analysieren. Oft kommen sogenannte Kopplungsverfahren zur Anwendung. Dabei wird häufig eine chromatographische Methode wie zum Beispiel die HPLC mit einer MS gekoppelt. Das Stoffgemisch wird somit zuerst mittels HPLC analysiert und darauf folgt dann die Analyse mit einem Massenspektrometer (58, 59). Die MS selbst ist in drei Phasen gegliedert: Als Erstes muss man Ionen erzeugen, um die Grundbedingung für diese Methode zu schaffen, denn ungeladene Teilchen können nicht durch elektrische und magnetische Felder beeinflusst werden. Dann kann man anhand der Masse/Ladung diese Ionen mit einem Massenanalysator auftrennen. Als Letztes werden die gewonnenen Masse/Ladungs-Werte mithilfe eines Detektors sortiert. Man kann mit dieser Methode aber nicht nur vollständige Moleküle analysieren, sondern auch Fragmente, die Rückschlüsse auf das ursprüngliche Molekül geben können. Somit lässt sich mithilfe der MS das Atom- und Molekulargewicht einer Verbindung sehr präzise bestimmen (58, 59).

5. Experimente und deren Ergebnisse

5.1. Zusammensetzung und Herstellung der Nanoemulsionen ohne Ginseng

Nachfolgend sind die Formulierungen aufgelistet, die für die Herstellung der Nanoemulsionen dieser Arbeit verwendet wurden (Tabelle 1-3). Die einzelnen Bestandteile sind in Kapitel 3 - Verwendete Materialien genauer beschrieben. Die Felder, die in der Tabelle blau hinterlegt sind, sollen die Bestandteile der Wasserphase andeuten und die hellorangenen Felder stellen die Komponenten der Ölphase dar. Für die Messungen mittels Zetasizer® und pH-Meter wurden pro Rezept (NE A o. G., NE B o. G., NE C o. G.) immer drei Nanoemulsionen (n=3) mit jeweils 20,0 g hergestellt. Für die rheologischen Messungen wurden nochmals je drei Nanoemulsionen von NE A ohne Ginseng und NE B ohne Ginseng hergestellt. Um die Proben nicht zu verwechseln, wurden die rheologischen Proben in dieser Arbeit mit dem Zusatz „für Rheometer“, abgekürzt mit „f. Rh.“, versehen. Die verwendeten Mengen der jeweiligen Bestandteile sind in den Tabellen in Massenprozenten (% m/m) bzw. in Gramm (g) angegeben.

Tabelle 1: Rezept 1: Nanoemulsion A ohne Ginseng mit 5% Tensid (NE A o. G.)

	% (m/m)	in g
Mittelkettige Triglyceride	20	4,0
Lezithin S 75	2,5	0,5
Lyssolezithin S LPC 65	2,5	0,5
Kaliumsorbat	0,1	0,02
Aqua destillata	ad 100	14,98

Tabelle 2: Rezept 2: Nanoemulsion B ohne Ginseng mit 5% Tensid (NE B o. G.)

	% (m/m)	in g
Mittelkettige Triglyceride	20	4,0
Lezithin S 75	2,5	0,5
Polysorbat 80	2,5	0,5
Kaliumsorbat	0,1	0,02
Aqua destillata	ad 100	14,98

Tabelle 3: Rezept 3: Nanoemulsion C ohne Ginseng mit 5% Tensid (NE C o. G.)

	% (m/m)	in g
Mittelkettige Triglyceride	20	4,0
Lezithin S 75	2,5	0,5
Zuckerester HLB 9	2,5	0,5
Kaliumsorbat	0,1	0,02
Aqua destillata	ad 100	14,98

Für die Herstellung der Nanoemulsionen wurden die zwei Phasen (Öl- und Wasserphase) separat in Bechergläsern auf einer beheizten Magnetrührplatte MR 3001 K von Heidolph Instruments (Schwabach, DE) so lange erwärmt, bis sich alle Bestandteile der jeweiligen Phase vollständig gelöst hatten. Dabei wurde darauf geachtet, dass jede der drei Proben unter gleichen Bedingungen hergestellt wurde. Die Ölphasen der Proben wurden alle bei ca. 70°C und 500 bis 750 rpm Umdrehungen gelöst und die Wasserphasen wurden auf ca. 50°C erhitzt und bei 500 rpm am Magnetrührer vorbereitet. Die unterschiedliche Zusammensetzung der Tenside führte dazu, dass die Dauer des Lösungsvorganges abhängig von der Formulierung unterschiedlich lange betrug. So brauchte die Ölphase mit Lysolezithin S LPC 65 für die vollständige Lösung aller Bestandteile am längsten mit ca. 1 h 15 min. Alle anderen Ölphasen, die nur MCT und Lezithin S 75 beinhalteten, waren nach ca. 45 min gelöst. Die Bestandteile der Wasserphasen lösten sich tendenziell sehr schnell. Der Lösungsvorgang betrug zwischen 10 und 15 min. Die Ausnahme stellten jedoch die Wasserphasen dar, die Zuckerester beinhalteten. Diese brauchten für eine vollständige Lösung ca. 40 min. Bei den Zuckerestern machte sich zusätzlich zum Lösungsverhalten noch ein weiteres Problem bemerkbar, nämlich ihre Konsistenz. Damit sie für die weitere Verarbeitung verwendet werden können, sollten die Phasen flüssig und homogen sein und dies lässt sich bei den Zuckerestern nur dann erreichen, wenn man sie konstant auf hoher Temperatur hält. Das heißt, die Wasserphasen, die Zuckerester enthalten, wurden bei Temperaturen zwischen 60°C und 70°C gerührt, da ansonsten eine Cremeschmelze spätestens beim Vorhomogenisieren eintrat und dies verhinderte die weitere Verarbeitung mittels Hochdruckhomogenisator.

Dieses temperaturabhängige Verhalten konnte auch schon bei früheren Experimenten beobachtet werden (5).

Nach dem Lösen aller Bestandteile wurden Öl- und Wasserphase zu einer Phase vereinigt und nochmals für ca. 15 min bei 50°C und 500 rpm Umdrehungen auf der beheizten Magnetrührplatte gerührt. Die Mischung wurde dann für 4 min bei 2000 rpm Umdrehungen mit einem Ultra Turrax® (=Rotor-Stator Labormixer) vorhomogenisiert. Dabei wurde das Gerät OMNI International 5000 von der Firma Omni International (Kennesaw, US) verwendet.

Anschließend wurde die Mischung im Hochdruckhomogenisator (Funktionsweise und verwendetes Gerät siehe Kapitel 4 – Verwendete Methoden) bei ca. 700-750 bar für

7 min homogenisiert. Diese 7 Minuten entsprachen 28 Homogenisationszyklen, denn ein Zyklus dauert 15 Sekunden.

5.2. Zusammensetzung und Herstellung der Nanoemulsionen mit Ginseng

Die Zusammensetzungen der Nanoemulsionen mit Ginseng (Tabelle 4-6) sind bis auf den enthaltenden Ginseng-Trockenextrakt identisch mit den wirkstofffreien Formulierungen. Von jeder Rezeptur (NE A m. G., NE B m. G., NE C m. G.) wurden auch hier jeweils drei Proben (n=3) zu je 20,0 g für die Zetasizer®- und pH-Messungen hergestellt. Für die rheologischen Messungen wurden dann nochmals je drei Nanoemulsionen von NE A mit Ginseng und NE B mit Ginseng hergestellt, die ebenfalls mit dem Kürzel „f. Rh.“ versehen wurden. Die Werte in der Tabelle sind wieder in Massenprozent (% m/m) bzw. in Gramm (g) angegeben.

Tabelle 4: Rezept 4: Nanoemulsion A mit Ginseng mit 5% Tensid (NE A m. G.)

	% (m/m)	in g
Mittelkettige Triglyceride	20	4,0
Lezithin S 75	2,5	0,5
Lyssolezithin S LPC 65	2,5	0,5
Kaliumsorbat	0,1	0,02
Ginseng	2	0,4
Aqua destillata	ad 100	14,58

Tabelle 5: Rezept 5: Nanoemulsion B mit Ginseng mit 5% Tensid (NE B m. G.)

	% (m/m)	in g
Mittelkettige Triglyceride	20	4,0
Lezithin S 75	2,5	0,5
Polysorbat 80	2,5	0,5
Kaliumsorbat	0,1	0,02
Ginseng	2	0,4
Aqua destillata	ad 100	14,58

Tabelle 6: Rezept 6: Nanoemulsion C mit Ginseng mit 5% Tensid (NE C m. G.)

	% (m/m)	in g
Mittelkettige Triglyceride	20	4,0
Lezithin S 75	2,5	0,5
Zuckerester HLB 9	2,5	0,5
Kaliumsorbat	0,1	0,02
Ginseng	2	0,4
Aqua destillata	ad 100	14,58

Die Herstellung der Nanoemulsionen mit Ginseng war äquivalent zu der Herstellung ohne Ginseng. Die Bestandteile der beiden Phasen wurden getrennt in der jeweiligen

Phase unter den jeweiligen Bedingungen gelöst, dann vereinigt, vorhomogenisiert und schlussendlich im Hochdruckhomogenisator verarbeitet. Innerhalb von ein paar Minuten löste sich der Ginseng-Trockenextrakt vollständig in der wässrigen Phase. Die wässrige Phase wurde insgesamt für 10-15 min auf der beheizten Magnetrührplatte gerührt, um eine Homogenisierung zu gewährleisten. Negativ fiel auf, dass so bald Zuckerester in der Rezeptur vorhanden war nicht nur der Lösungsvorgang länger dauerte, sondern vor allem auch eine höhere Temperatur eingestellt werden musste. Statt den üblichen 50°C wurden für die Herstellung der gelösten wässrigen Phasen Temperaturen zwischen 60°C und 70°C verwendet.

5.3. Charakterisierung und Stabilitätsuntersuchungen aller Nanoemulsionen

Alle hergestellten Nanoemulsionen wurden zwölf Wochen lang in luftdicht verschließbaren mit Parafilm überzogenen Epruvetten unter dem Abzug bei Raumtemperatur (ca. 23°C) und zusätzlich lichtgeschützt (mit Alufolie ummantelt), gelagert. Die Proben wurden über einen Zeitraum von drei Monaten untersucht. Die erste Probe wurde ein bis vier Tage nach der Herstellung (=Woche 0) vermessen. Die nächste Messung erfolgte dann eine Woche nach Herstellung (=Woche 1), dann zwei Wochen nach Herstellung (=Woche 2) und dann vier Wochen nach Herstellung (=Woche 4). Je nach Methode wurden die Proben danach in zwei oder vierwöchigen Intervallen bis zur Woche 12 weiterhin vermessen. Vor jeder Messung wurde die jeweilige Probe ein paar Sekunden mithilfe des Vortexmischers REAX 2000 von der Firma Heidolph Instruments (Schwabach, DE) geschüttelt.

5.3.1. Ergebnisse der Makroskopischen Prüfungen

Nanoemulsionen ohne Ginseng-Trockenextrakt:

Woche 0:

Nach der Herstellung waren alle wirkstofffreien Nanoemulsionen (NE A o. G., NE B o. G., NE C o. G.) homogen, einphasig und geruchsneutral. Der einzige Unterschied, den man zwischen den drei Formulierungen beobachten konnte, war die Farbe der Emulsionen. In Abbildung 11 ist jeweils eine Probe der drei unterschiedlichen Formulierungen zu sehen. Die Nanoemulsionen mit Lysolezithin (NE A o. G.), in Abbildung 11 links, hatten eine weiße Farbe, die aber zusätzlich einen leicht gelblichen Ton aufwies. Im Gegensatz dazu waren die Nanoemulsionen mit Polysorbat 80 (NE B o. G.), in Abbildung 11 in der Mitte, reinweiß, aber lichtdurchlässiger, also transluzenter als die anderen Emulsionen. Die Nanoemulsionen, die Zuckerester beinhalteten (NE C o. G.), in Abbildung 11 rechts, waren milchig-reinweiß.

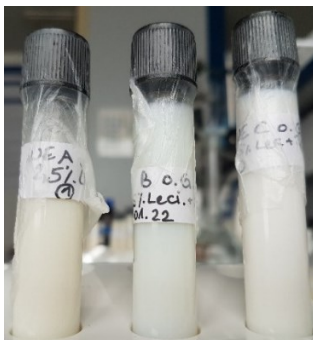


Abbildung 11: NE A o. G.(links) / NE B o. G (Mitte) / NE C o. G. (rechts), Woche 1

Woche 12:

Mit der Zeit konnte beobachtet werden, dass die Emulsionen zunehmend einen ranzigen Geruch entwickelten. Besonders bei einer Probe von NE A ohne Ginseng bemerkte man in Woche 12 einen sehr starken Geruch, der an verdorbenes Öl erinnerte. Das makroskopische Aussehen hatte sich jedoch bei dieser Probe nicht verändert.

Nanoemulsionen mit Ginseng-Trockenextrakt:

Woche 0:

Alle Nanoemulsionen mit Ginseng-Trockenextrakt (NE A m. G., NE B m. G., NE C m. G.) waren nach der Herstellung gelblicher als die wirkstofffreien Emulsionen, da der Ginseng-Trockenextrakt eine sehr dominante gelb-orange Eigenfarbe aufweist. Die Farbtöne der drei unterschiedlichen Formulierungen unterschieden sich kaum voneinander. Alle hatten eine weiß-gelbliche Farbe. Der einzige Unterschied, der ersichtlich war, bestand darin, dass die Formulierung mit Polysorbat 80 (NE B m. G.) transluzenter als die anderen Formulierungen war. Alle Emulsionen mit Ginseng waren nach der Herstellung homogen, einphasig und geruchsneutral. In Abbildung 12 ist jeweils eine Probe von jeder Formulierung mit Ginseng abgebildet.

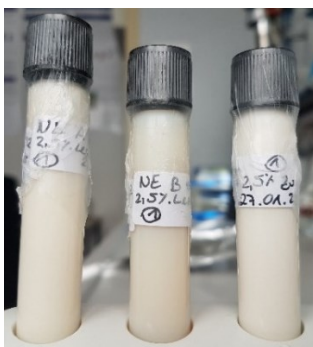


Abbildung 12: NE A m. G. (links) / NE B m. G. (Mitte) / NE C m. G. (rechts), Woche 0

Woche 1:

In Woche 1 zeigte sich bei allen drei Nanoemulsionen, die Zuckerester (NE C m. G.) enthielten, eine Phasentrennung. In Abbildung 13 kann man diese Phasentrennung besonders bei der Probe in der Mitte sehr gut erkennen.

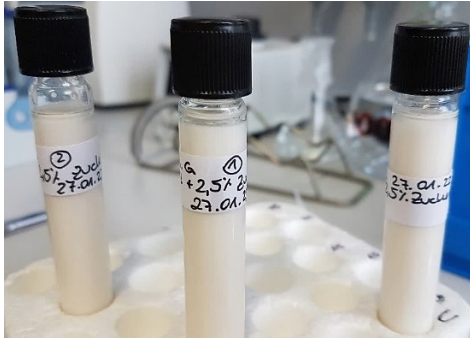


Abbildung 13: NE C m. G.: Phasentrennung, Woche 1

Woche 8:

Bei der Messung in Woche 8 war bei allen drei ginsenghaltigen Proben mit Lyssolezithin, die für die rheologischen Messungen verwendet wurden (NE A m. G. f. Rh.), eine Veränderung des Aussehens ersichtlich. Die Inhomogenität der Probe erkennt man in Abbildung 14 sehr gut. Auf den ersten Blick sieht man, dass auf der Oberfläche dieser Emulsion Öltröpfchen schwimmen.



Abbildung 14: NE A m. G. f. Rh.: Öltröpfchen, Woche 8

Auch bei einer der ginsenghaltigen Emulsionen mit Polysorbat 80, die für die rheologischen Messungen verwendet wurde (NE B m. G. f. Rh.), machte sich nach Woche 8 eine Veränderung im Aussehen bemerkbar. In Abbildung 15 erkennt man einen Schaum, der sich an der Oberfläche der Emulsion abgelagert hat. Nach dem Schütteln der Probe war dieser Schaum nicht mehr sichtbar, jedoch war bei der Probe dann auch ein Ölfilm, wie in Abbildung 14 dargestellt ist, zu sehen.

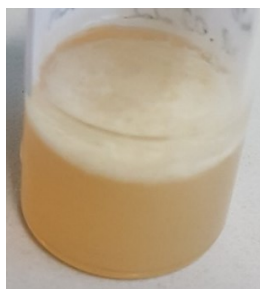


Abbildung 15: NE B m. G. f. Rh.: Schaum, Woche 8

Woche 12:

Dieselben drei Proben (NE A m. G. f. Rh.), die in Woche 8 schon auffällig waren, zeigten bei den rheologischen Messungen in Woche 12 hinsichtlich ihres Aussehens wieder eine Veränderung. In Abbildung 16 sind diese drei Proben dargestellt und man kann in dieser Abbildung erkennen, dass alle drei Proben in Woche 12 ein Caking zeigten. Dieses Caking war aber reversibel, denn nach dem Schütteln der Proben für ein paar Sekunden gelangten alle drei Emulsionen in ihre Ausgangsform zurück und erschienen hinsichtlich ihres Aussehens wieder als homogen.



Abbildung 16: NE A m. G. f. Rh.: Caking vor dem Schütteln, Woche 12

In Abbildung 17 erkennt man, dass in Woche 12 bei einer Probe der Formulierung NE B m. G. f. Rh. eine Verfärbung zusätzlich zur Schaumbildung in Woche 8 auftrat. Bei genauerer Betrachtung konnte man auch ein beginnendes Caking bei dieser Probe erkennen.



Abbildung 17: NE B m. G. f. Rh.: Verfärbung und Schaumbildung einer Probe, Woche 12

5.3.2. Ergebnisse der Zetasizer®-Messungen

Für die Messungen mit dem Zetasizer® (Aufbau und Funktionsweise des Geräts in den Kapiteln 4.2. und 4.3. nachzulesen) wurden alle hergestellten Proben (NE A o. G. und NE A m. G., NE B o. G. und NE B m. G., NE C o. G. und NE C m. G.) über einen Zeitraum von zwölf Wochen (Woche 0, Woche 1, Woche 2, Woche 4, Woche 6, Woche 8, Woche 10, Woche 12) untersucht. Die Proben von NE C m. G. konnten jedoch nach Woche 1 nicht mehr gemessen werden, da sie eine Phasentrennung erlitten. Alle zu messenden Nanoemulsionen wurden in dieser Arbeit mit Wasser bzw. einer wässrigen 0,1 mM NaCl-Lösung im Verhältnis 1:100 (v/v) verdünnt. Die Proben wurden mittels Küvette bzw. Zetazelle in den Zetasizer® eingesetzt. Aus ökonomischen Gründen wurden die Küvetten und Zetazellen nach der Messung mit Wasser und Ethanol gespült und nach der Trocknung wiederverwendet. In den nachfolgenden Diagrammen ist immer der Mittelwert der Proben (n=3) derselben Formulierung mit $\pm$ STABW dargestellt. Die genauen Messwerte (Partikelgröße, Zetapotential, PDI und Leitfähigkeit) sind im Anhang zu finden.

NE A:

Partikelgröße:

Jeweils drei Proben von NE A ohne Ginseng und NE A mit Ginseng wurden in den ersten vier Tagen nach der Herstellung mithilfe des Zetasizers® charakterisiert. In Abbildung 18 sind die durchschnittlichen Partikelgrößen der Nanoemulsionen als mittlerer hydrodynamischer Durchmesser dargestellt. Nach der Herstellung, also in Woche 0, betrug die durchschnittliche Partikelgröße von NE A mit Ginseng 132 nm, dagegen war die durchschnittliche Partikelgröße der Formulierung NE A ohne Ginseng mit einem Wert von knapp 138 nm etwas höher. Des Weiteren sieht man in der Grafik, dass die Formulierung mit Ginseng über den gesamten Lagerzeitraum von 12 Wochen eine konstante Partikelgröße zwischen 132 und 134 nm besaß und somit stabil war. Bei der Formulierung ohne Ginseng kam es nach der Messung in Woche 10 bei einer der drei Proben zu einem Wachstum der Partikelgröße. Deshalb erhöhte sich die durchschnittliche Partikelgröße in Woche 12 auf 146 nm und auch die Standardabweichung war bei dieser Messung höher als bei den Messungen zuvor. Da die Partikelgröße aber bei zwei von drei Proben von NE A ohne Ginseng über die gesamte Lagerung von 12 Wochen konstante Werte zeigte, würde man mehr Daten

benötigen, um eine finale Einschätzung über die Stabilität dieser Formulierung zu treffen.

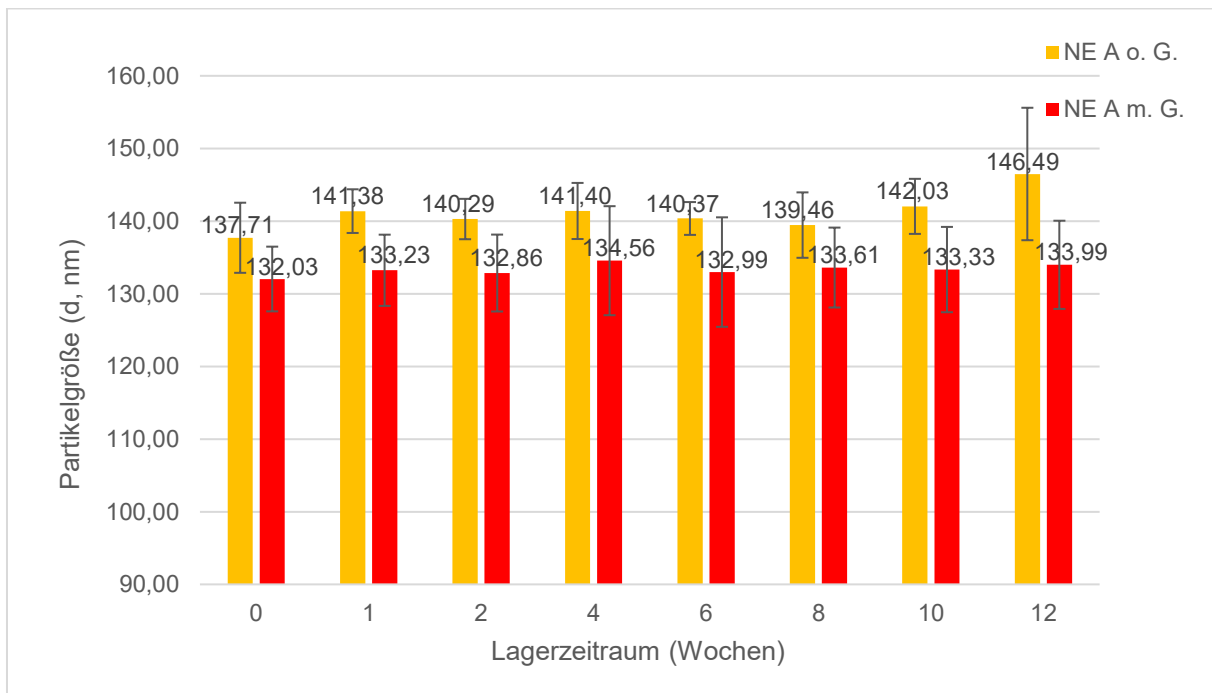


Abbildung 18: Durchschnittliche Partikelgröße (hydrodynamischer Durchmesser) der NE A o. G. und NE A m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

Zetapotential:

In Abbildung 19 sind die Werte des Zetapotentials für NE A ohne Ginseng und NE A mit Ginseng über einen Lagerzeitraum von 12 Wochen dargestellt. Direkt nach der Herstellung, also in Woche 0, ergab sich für die Formulierung ohne Ginseng ein Zetapotential-Wert von etwa -50 mV. Die Formulierung mit Ginseng zeigte in Woche 0 einen etwas niedrigeren Wert bei -45 mV. Tendenziell zeigten die Proben ohne Ginseng über die gesamte Lagerung ein etwas höheres Zetapotential mit Werten zwischen -48 mV und -53 mV. Bei den Proben mit Ginseng lag das Zetapotential zwischen -41 mV und -47 mV. Die Zetapotential-Werte beider Formulierungen waren aber über 12 Wochen konstant und somit kam es während der gesamten Lagerung zu keinen größeren Schwankungen der Werte. Aufgrund dieser konstant hohen Messwerte konnten beide Formulierungen über den gesamten Lagerzeitraum als stabil betrachtet werden. Es wurden in den Wochen 1, 4, 8 und 12 zusätzlich zu den Messungen mit destilliertem Wasser, auch Messungen mit einer 0,1 mM NaCl-Lösung durchgeführt, um eine Verfälschung bzw. Schwankung der Werte des Zetapotentials durch das Wasser ausschließen zu können. In der Grafik ist zu erkennen, dass es

keinen signifikanten Unterschied machte, ob Wasser oder die NaCl-Lösung für die Messungen verwendet wurde.

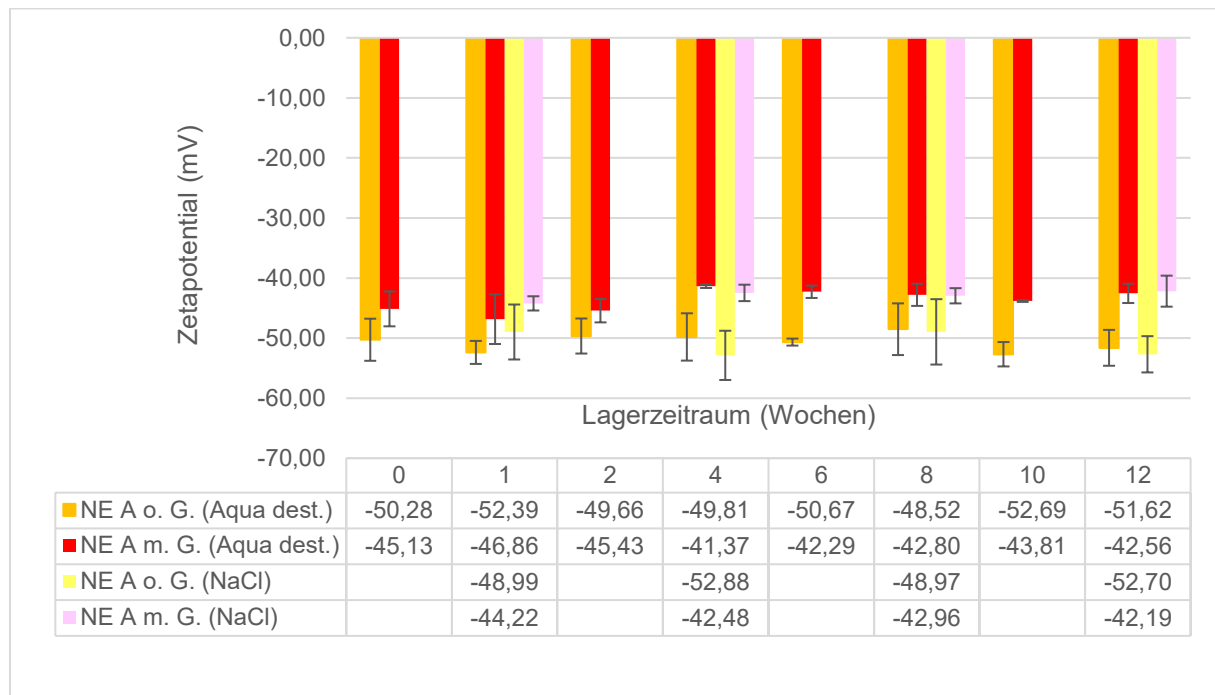


Abbildung 19: Zetapotential der NE A o. G. und NE A m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

Polydispersitätsindex:

Beide Formulierungen zeigten in Woche 0 sowie über den gesamten Lagerzeitraum von 12 Wochen PDI-Werte um 0,100. Die PDI-Werte beider Formulierungen lagen eng beieinander und die Formulierungen können deshalb als gleichwertig betrachtet werden, da sie beide eine enge Partikelgrößenverteilung über die gesamte Lagerung aufwiesen. Es ist jedoch in Abbildung 20 zu erkennen, dass die durchschnittliche Standardabweichung bei den Proben mit NE A ohne Ginseng vor allem in Woche 12 signifikant höher war als bei den Proben mit NE A mit Ginseng. Die erhöhte Standardabweichung ist aber auf das bereits erwähnte Partikelgrößenwachstum zurückzuführen, das in diesem Zeitraum bei einer der drei Proben von NE A ohne Ginseng auftrat.

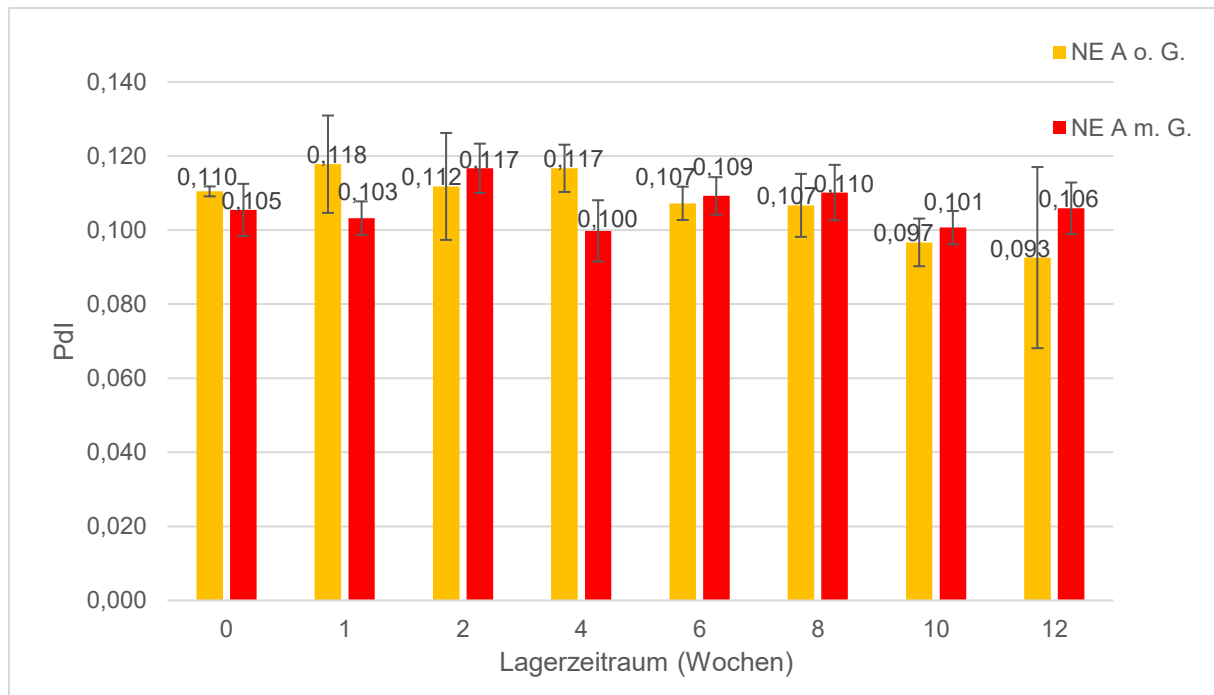


Abbildung 20: PDI der NE A o. G. und NE A m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

NE B:

Partikelgröße:

Die durchschnittliche Partikelgröße der Proben von NE B ohne Ginseng und NE B mit Ginseng, die als hydrodynamischer Durchmesser angegeben wird, lag nach der Herstellung der Nanoemulsionen in Woche 0 bei etwa 100 nm. In der Abbildung 21 erkennt man, dass die Formulierung mit Ginseng über die gesamte Lagerung konstante Werte zwischen 97 und 99 nm zeigte und somit über den gesamten Lagerzeitraum stabil war. Auffällig war jedoch, dass sich die durchschnittliche Partikelgröße der Formulierung ohne Ginseng nach der Messung in Woche 8 signifikant erhöhte, da zwei der drei Proben dieser Formulierung ein Partikelgrößenwachstum erfuhren. In Woche 10 lag die durchschnittliche Partikelgröße somit bei 123 nm und in Woche 12 stieg die durchschnittliche Partikelgröße sogar auf 133 nm. Als logische Konsequenz ergab sich daraus, dass die Standardabweichung bei diesen zwei Messungen auch sehr hohe Werte annahm.

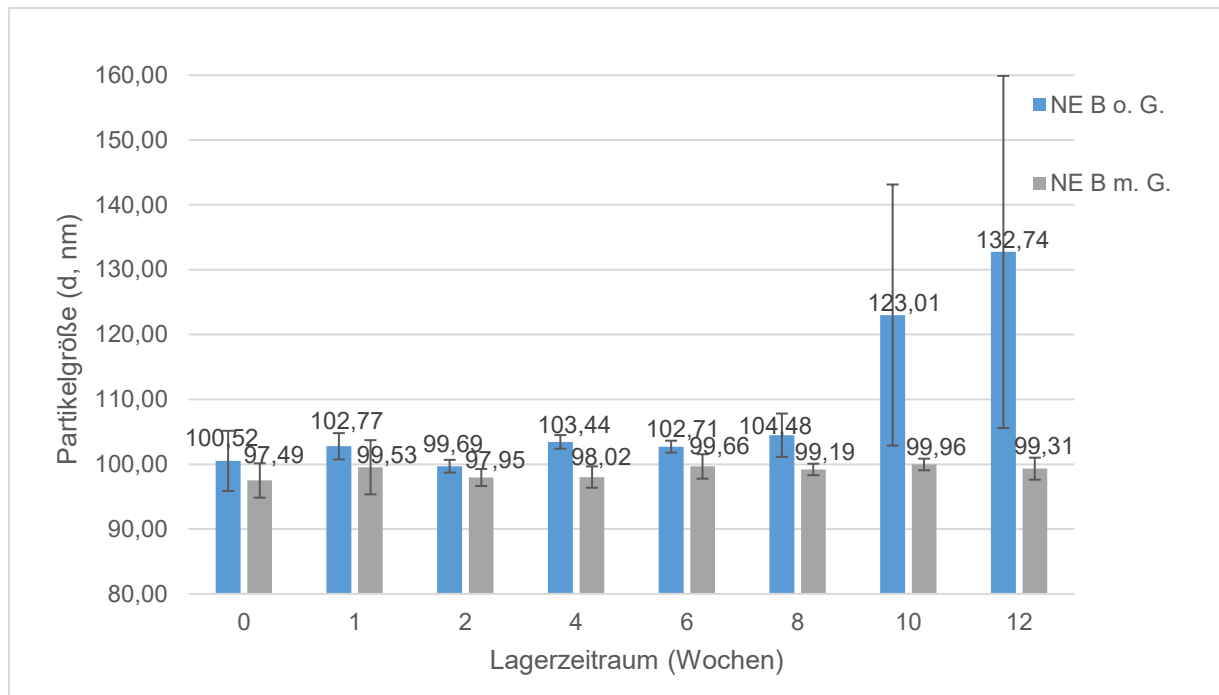


Abbildung 21: Durchschnittliche Partikelgröße (hydrodynamischer Durchmesser) der NE B o. G. und NE B m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

Zetapotential:

Das durchschnittliche Zetapotential der Proben von NE B ohne Ginseng lag nach der Herstellung in Woche 0 bei einem Wert von -56 mV. Dagegen zeigten die Proben von NE B mit Ginseng nur einen durchschnittlichen Wert von -45 mV. Die Zetapotential-Werte beider Formulierungen waren über den gesamten Lagerzeitraum annähernd konstant, wie man in Abbildung 22 sehen kann. Aufgrund dieser konstant hohen Messwerte wurden beide Formulierungen über den Lagerzeitraum von 12 Wochen als stabil betrachtet. Bei den Messungen beider Formulierungen zeigte sich jedoch eine hohe Standardabweichung. Zwischen den Messungen mit destilliertem Wasser und den Messungen mit der 0,1 mM NaCl-Lösung konnten dennoch keine signifikanten Abweichungen registriert werden.

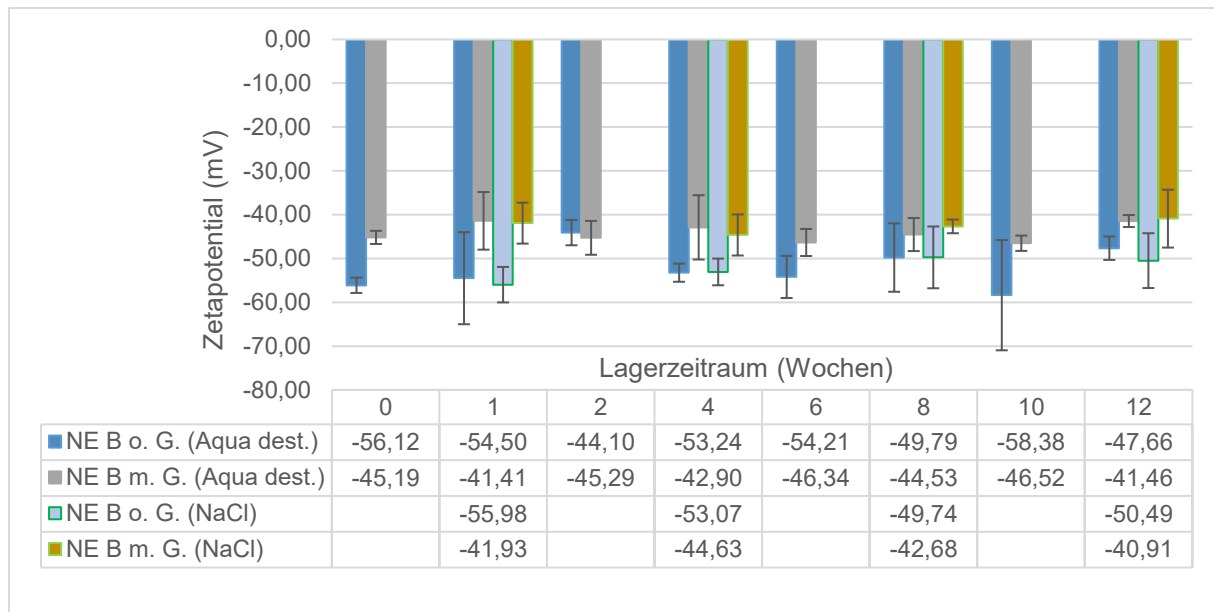


Abbildung 22: Zetapotential der NE B o. G. und NE B m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

Polydispersitätsindex:

Wie man in Abbildung 23 erkennen kann, lagen alle durchschnittlich gemessenen PDI-Werte von NE B ohne Ginseng und NE B mit Ginseng unter 0,100. Somit zeigten beide Formulierungen eine enge Partikelgrößenverteilung über die gesamte Lagerung. Nach der Herstellung, also in Woche 0, wies die Formulierung ohne Ginseng einen kleineren PDI-Wert als die Formulierung mit Ginseng auf. Aber schon in Woche 1 trat genau der umgekehrte Fall ein und die Formulierung ohne Ginseng zeigte den kleineren PDI-Wert. Die Formulierungen waren deshalb hinsichtlich ihres PDI-Werts als gleichwertig einzustufen. Es sollte jedoch berücksichtigt werden, dass die Standardabweichung bei allen Messungen hohe Werte für beide Formulierungen annahm.

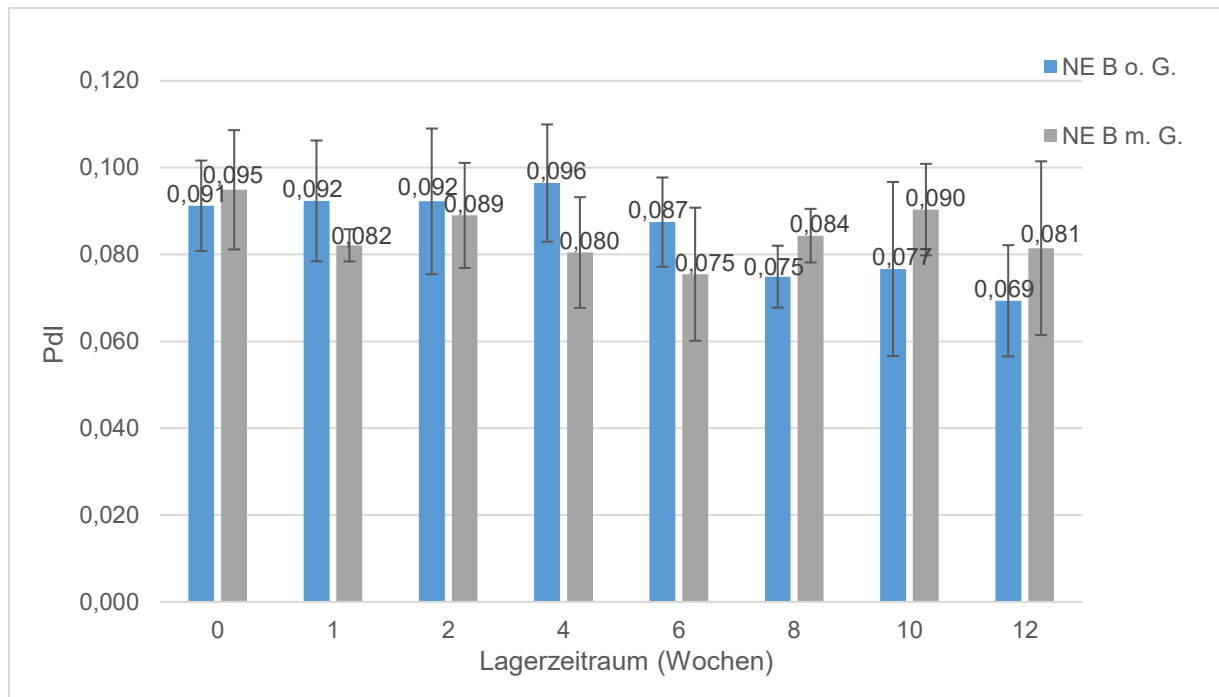


Abbildung 23: PDI der NE B o. G. und NE B m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

NE C:

Partikelgröße:

In Abbildung 24 ist auf den ersten Blick ersichtlich, dass die Formulierung mit Ginseng schon direkt nach der Herstellung, also in Woche 0 eine größere durchschnittliche Partikelgröße als die Formulierung ohne Ginseng aufwies. Die Partikelgröße für NE C mit Ginseng betrug in Woche 0 knapp 175 nm, dagegen lag der Wert für NE C ohne Ginseng nur bei 146 nm. In Woche 1 zeigte sich, wie schon bei den makroskopischen Prüfungen erwähnt, dass alle Proben von NE C mit Ginseng eine Phasentrennung erlitten und die durchschnittliche Partikelgröße auf über 300 nm anstieg. Nach der Phasentrennung konnten diese Proben nicht mehr gemessen werden und somit fehlen die entsprechenden Werte in der Grafik. Die durchschnittlichen Partikelgrößen der Proben ohne Ginseng nahmen jedoch über den gesamten Lagerzeitraum konstante Werte um 150 nm an und auch die Standardabweichung war konstant niedrig. Somit war die Formulierung NE C ohne Ginseng über die gesamte Lagerung stabil.

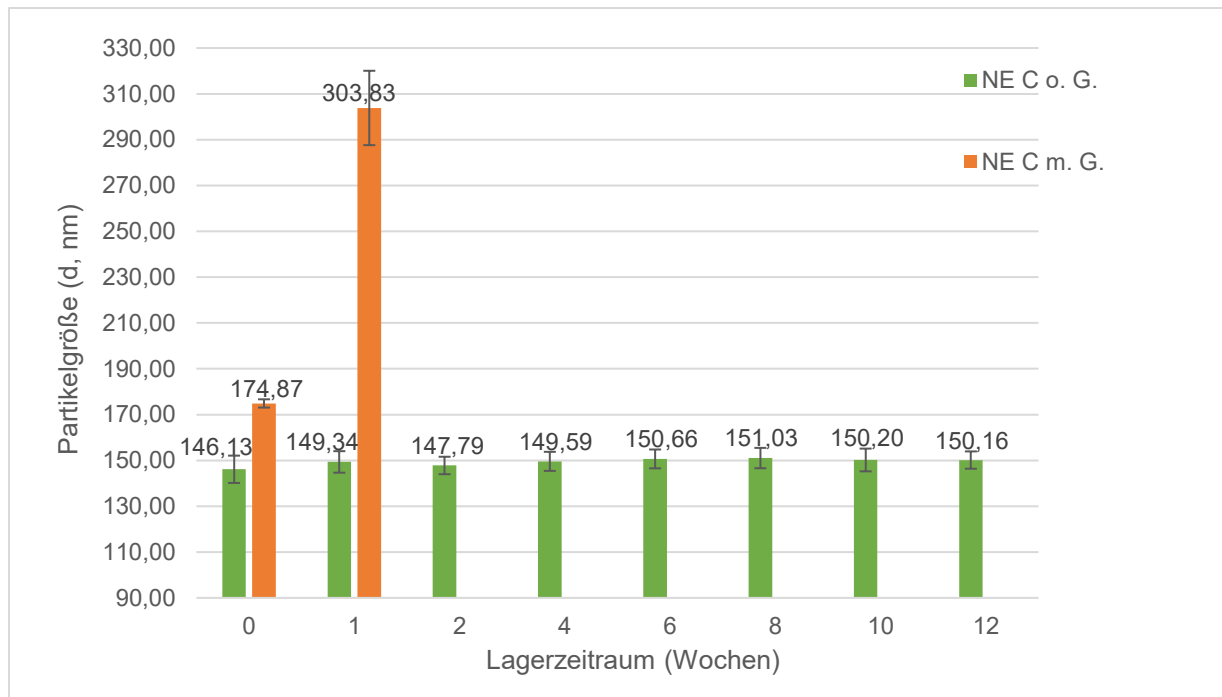


Abbildung 24: Durchschnittliche Partikelgröße (hydrodynamischer Durchmesser) der NE C o. G. und NE C m. G nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

Zetapotential:

In Abbildung 25 ist zu erkennen, dass direkt nach der Herstellung, also in Woche 0 ein durchschnittlicher Zetapotential-Wert von -67 mV für die Formulierung ohne Ginseng gemessen wurde. Dieser Wert zeigte aber eine hohe Standardabweichung und war deshalb nicht sehr aussagekräftig. Für die Formulierung mit Ginseng wurde in Woche 0 ein durchschnittlicher Wert von -50 mV gemessen. Ab Woche 1 pendelten sich die Zetapotential-Werte für die Formulierung NE C ohne Ginseng auf Werte zwischen -50 mV und -60 mV ein. Die durchschnittlichen Werte des Zetapotentials der Proben mit Ginseng in Woche 1 lagen mit den Werten der Proben ohne Ginseng zwar auf gleicher Höhe, jedoch waren diese Werte nicht aussagekräftig, da man von den makroskopischen Prüfungen und den Messungen der Partikelgröße wusste, dass eine Phasentrennung in Woche 1 bei allen drei Proben dieser Formulierung stattgefunden hatte. Interessanterweise spiegelte sich diese Phasentrennung nicht in den Messungen des Zetapotentials wider.

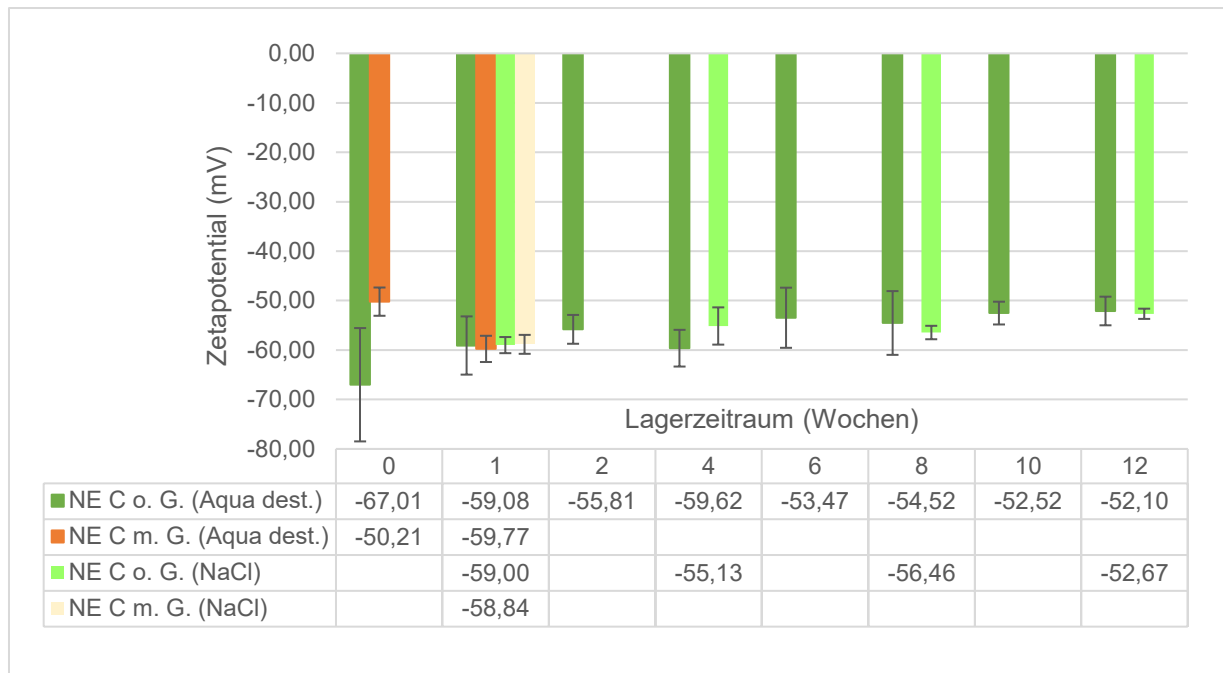


Abbildung 25: Zetapotential der NE C o. G. und NE C m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

Polydispersitätsindex:

In Woche 0, also direkt nach der Herstellung lag der durchschnittliche PDI-Wert für die Formulierung mit Ginseng unter 0,100 und war somit niedriger als der durchschnittliche Wert für die Proben von NE C ohne Ginseng, der laut Messungen genau bei 0,100 lag. Bei der Messung in Woche 1 stieg der durchschnittliche PDI-Wert für die Formulierung mit Ginseng dann aber auf über 0,200 an und die Standardabweichung war ebenso hoch. Aufgrund der Phasentrennung nach Woche 1 konnte man die Proben der Formulierung mit Ginseng danach nicht mehr vermessen und die restlichen Daten für diese Formulierung fehlen in Abbildung 26. In dieser Abbildung ist aber zu erkennen, dass die PDI-Werte für die Formulierung ohne Ginseng über den gesamten Lagerzeitraum von 12 Wochen konstant bei Werten um 0,100 lagen und die Formulierung somit über die gesamte Lagerung stabil war.

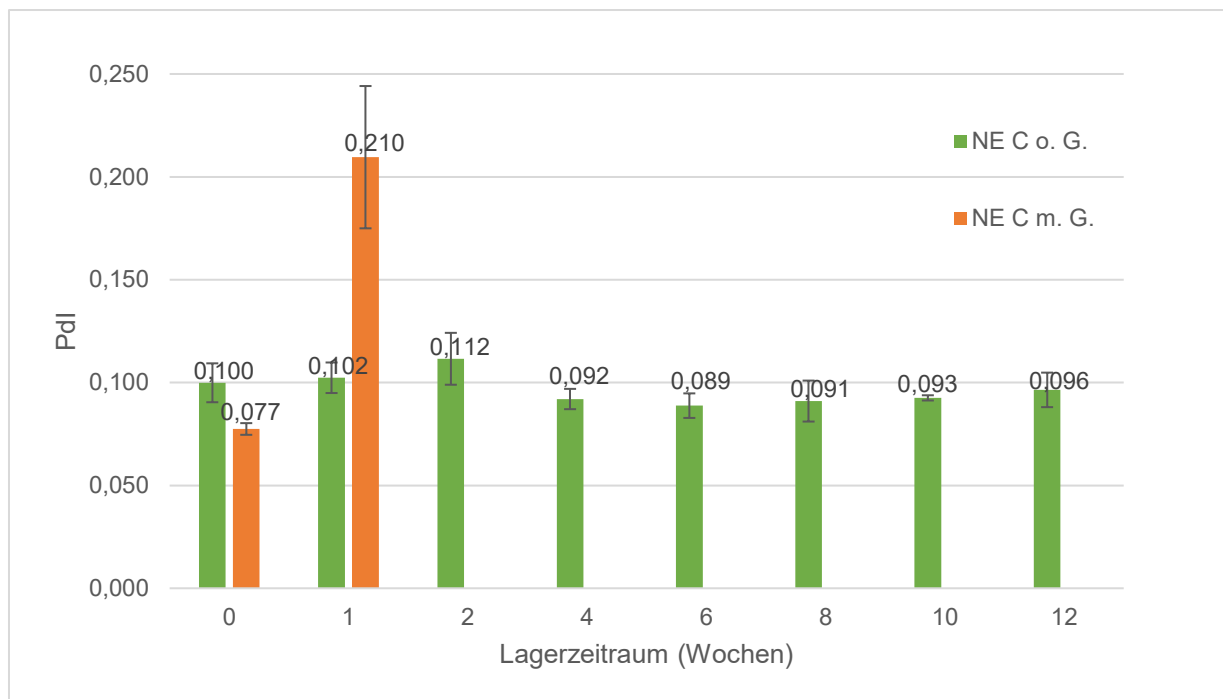


Abbildung 26: PDI der NE C o. G. und NE C m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

5.3.3. Ergebnisse der pH-Messungen

Für die pH-Wert Messungen mithilfe des pH-Meters (Aufbau und Funktionsweise des Geräts in Kapitel 4.4) wurden wie bei den Zetasizer®-Messungen 18 Proben herangezogen. Jeweils drei Proben von NE A o. G. und NE A m. G., NE B o. G. und NE B m. G., NE C o. G. und NE C m. G. wurden über zwölf Wochen (Woche 0, Woche 1, Woche 2, Woche 4, Woche 6, Woche 8, Woche 10, Woche 12) vermessen. Jedoch konnten die drei Proben von NE C m. G. nach Woche 1 aufgrund der Phasentrennung auch nicht mehr zur pH-Messung herangezogen werden und wurden von den weiteren Messungen ausgeschlossen. Es wurden von jeder Probe drei Einzelmessungen mit dem pH-Meter durchgeführt und anschließend wurde der Mittelwert ermittelt, um genauere Daten zu generieren. Die Messungen erfolgten alle bei Raumtemperatur (25°C). Aus praktischen Gründen wurde das pH-Meter immer direkt in das Probengefäß eingetaucht. Zwischen den unterschiedlichen Proben wurde das pH-Meter mit destilliertem Wasser gereinigt und getrocknet. In den nachfolgenden Diagrammen ist immer der Mittelwert der Proben (n=3) derselben Formulierung mit $\pm$ STABW dargestellt. Die pH-Werte der Einzelmessungen befinden sich im Anhang dieser Arbeit.

NE A:

In Abbildung 27 erkennt man, dass nach der Herstellung, also in Woche 0 der durchschnittliche pH-Wert von NE A ohne Ginseng bei 6,70 lag. Der durchschnittliche pH-Wert von NE A mit Ginseng war deutlich niedriger und somit besser hautverträglich mit einem Wert von 5,69. Über den Lagerzeitraum von 12 Wochen kam es jedoch bei beiden Formulierungen zu einem stetigen Abfall der pH-Werte. Schlussendlich verzeichneten beide Formulierungen in Woche 12 ein Minus von etwa 1,00. Zudem war bei der Formulierung mit Ginseng auffällig, dass die Standardabweichung ab Woche 4 hohe Werte annahm und somit ist die Aussagekraft dieser Werte begrenzt.

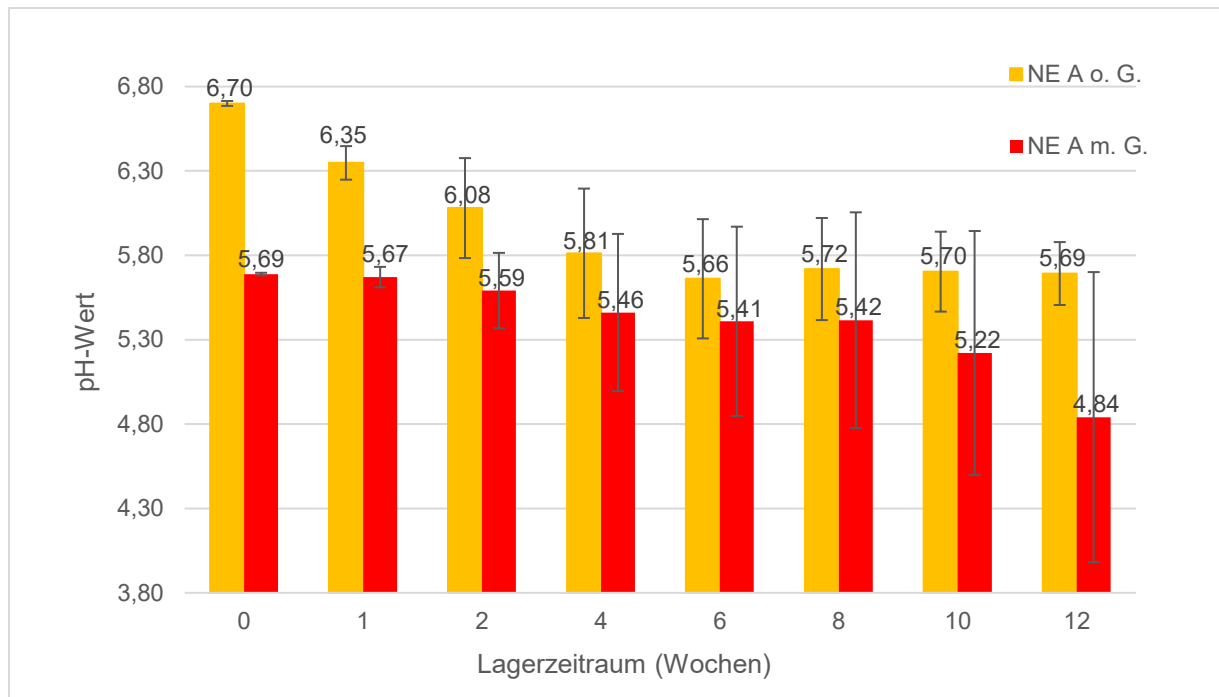


Abbildung 27: pH-Wert der NE A o. G. und NE A m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

NE B:

Die Formulierung ohne Ginseng wies in Woche 0, also direkt nach der Herstellung einen durchschnittlichen pH-Wert von 6,70 auf. Die Proben mit Ginseng starteten in Woche 0 bei einem deutlich niedrigeren Wert, der besser hautverträglich war, nämlich bei 5,64. Wie in Abbildung 28 zu erkennen ist, sank der pH-Wert von NE A ohne Ginseng über den Lagerzeitraum von 12 Wochen um einen Wert von 1,00. Die Formulierung mit Ginseng verzeichnete stattdessen nur einen Abfall von etwa 0,40; jedoch war die Standardabweichung ab Woche 4 sehr hoch und somit ist die Aussagekraft dieser Messungen nur von geringem Wert und man müsste noch weitere Experimente durchführen, um Klarheit zu schaffen.

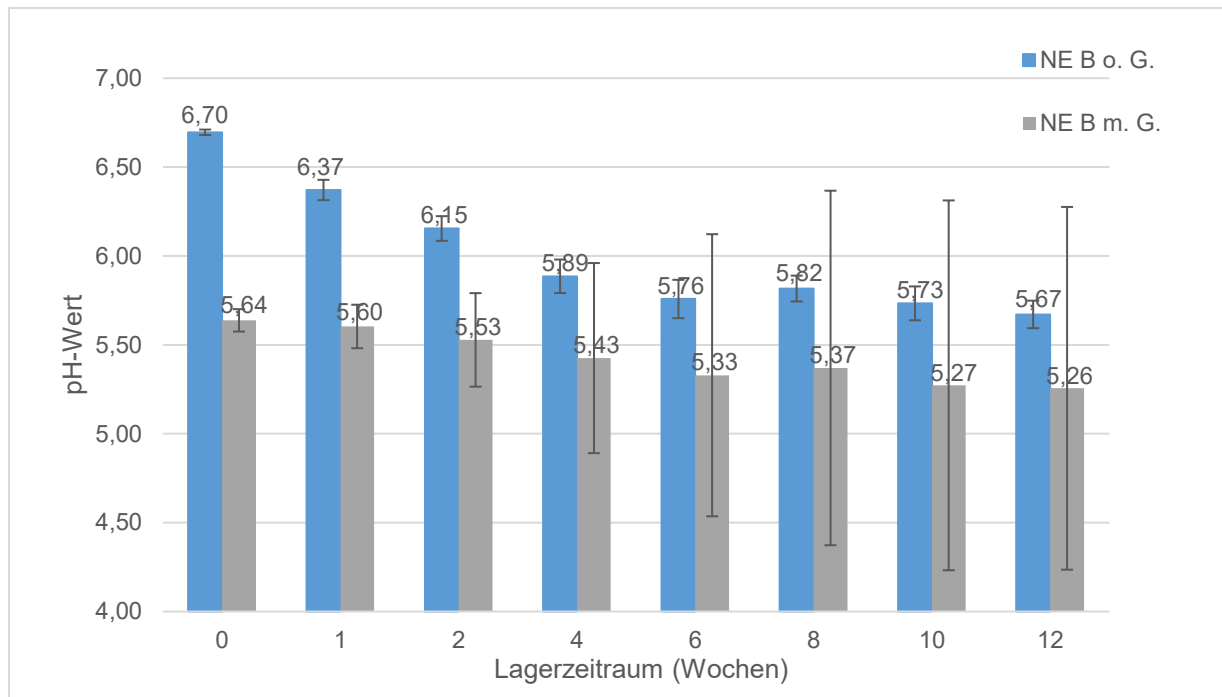


Abbildung 28: pH-Wert der NE B o. G. und NE B m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

NE C:

In Abbildung 29 erkennt man, dass der pH-Wert der Formulierung mit Ginseng nach der Herstellung, also in Woche 0 bei einem durchschnittlichen Wert von 5,64 liegt. Der pH-Wert der Formulierung ohne Ginseng liegt deutlich höher bei einem durchschnittlichen Wert von 6,67 und ist somit weniger gut hautverträglich. Wie bereits erwähnt, erlitten die Proben mit Ginseng nach Woche 1 eine Phasentrennung und deshalb fehlen diese Messpunkte in der Grafik. Über den Lagerzeitraum von 12 Wochen sank der pH-Wert von NE C ohne Ginseng um einen Wert von 0,70. Die Standardabweichungen waren aber bei allen Messungen niedrig und können deshalb als aussagekräftig gewertet werden.

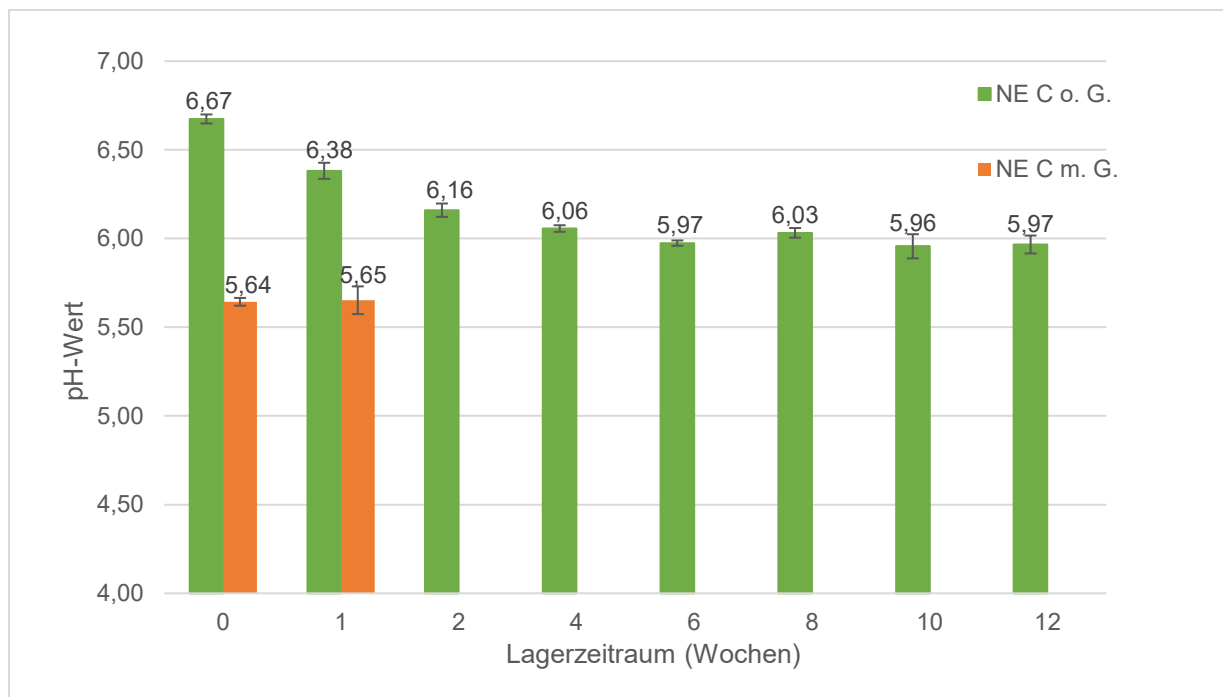


Abbildung 29: pH-Wert der NE C o. G. und NE C m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

5.3.4. Vergleich der stabilen Formulierungen mit Ginseng-Trockenextrakt

Anhand der Messergebnisse, die mithilfe des Zetasizers® gewonnen wurden, spiegelt sich wieder, dass die Nanoemulsionen der Formulierungen NE A mit Ginseng und NE B mit Ginseng über 12 Wochen stabil waren. Es wurden aber einige Unterschiede zwischen den beiden Formulierungen festgestellt. Auf diese Unterschiede soll in diesem Kapitel eingegangen werden. In den nachfolgenden Diagrammen ist immer der Mittelwert der Proben (n=3) derselben Formulierung mit $\pm$ STABW dargestellt. Die genauen Messwerte (Partikelgröße, Zetapotential, PDI und pH-Werte) sind im Anhang zu finden.

Woche 0:

In Tabelle 7 sind die Charakteristika beider Formulierungen in Woche 0, also nach der Herstellung, aufgelistet. Man sieht, dass NE B mit Ginseng eine deutlich kleinere durchschnittliche Partikelgröße (ca. 97 nm) aufwies als NE A mit Ginseng (ca. 132 nm). Der Unterschied betrug etwa 35 nm. Doch trotz der unterschiedlichen Partikelgrößen lagen die Werte des Zetapotentials für beide Formulierungen bei -45 mV. Auch der PDI war mit Werten um 0,1 fast identisch und somit hatten beide Formulierungen direkt nach der Herstellung eine enge Partikelgrößenverteilung zu verzeichnen. Die pH-Werte lagen mit einer Differenz von nur 0,05 auch im selben Bereich und beide Formulierungen konnten somit als hautverträglich charakterisiert werden.

Tabelle 7: NE A m. G. und NE B m. G. Charakterisierung, Woche 0

Woche 0	NE A m. G.	STABW	NE B m. G.	STABW
Partikelgröße (nm)	132,03	$\pm 4,45$	97,49	$\pm 2,65$
Zetapotential (mV)	-45,13	$\pm 2,91$	-45,19	$\pm 1,50$
PDI	0,105	$\pm 0,007$	0,095	$\pm 0,014$
pH-Wert	5,69	$\pm 0,008$	5,64	$\pm 0,063$

Partikelgröße:

In Abbildung 30 erkennt man, dass sowohl die durchschnittlichen Partikelgrößen von NE A mit Ginseng als auch die durchschnittlichen Partikelgrößen von NE B mit Ginseng konstante Werte über den Lagerzeitraum von 12 Wochen zeigten. Die Standardabweichung war bei den Proben von NE A mit Ginseng tendenziell etwas höher, lag aber dennoch in einem plausiblen Rahmen.

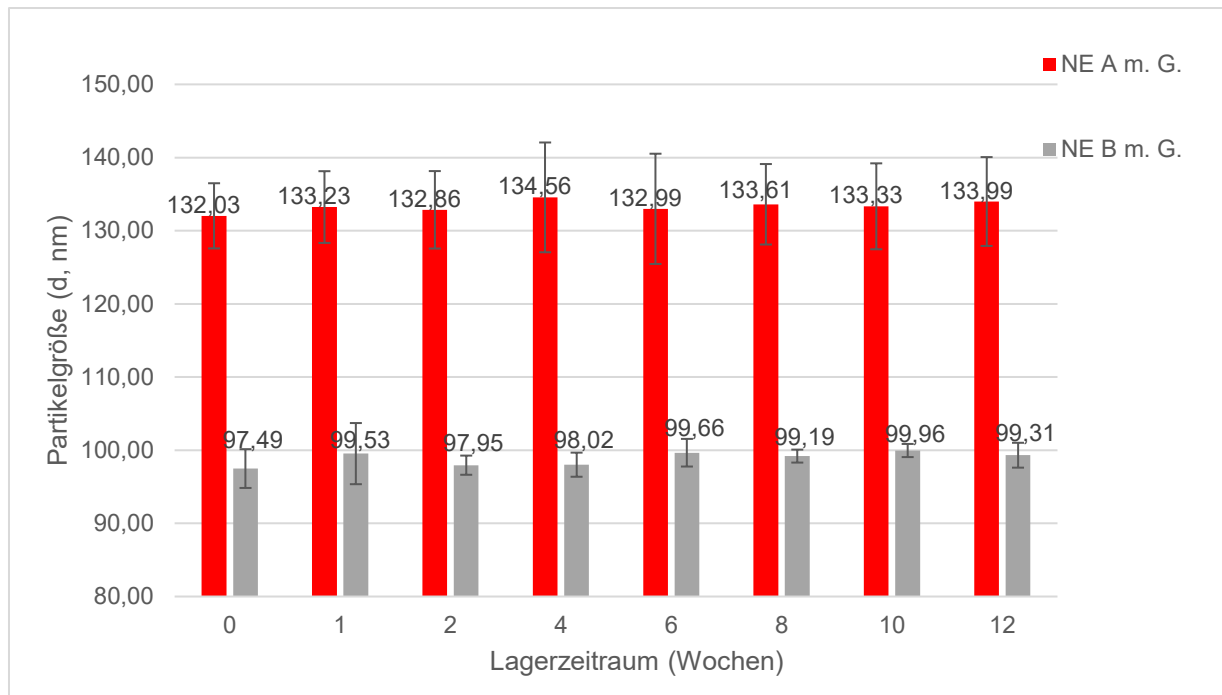


Abbildung 30: Durchschnittliche Partikelgröße (hydrodynamischer Durchmesser) der NE A m. G. und NE B m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

Zetapotential:

Wie man in Abbildung 31 sehen kann, lagen die durchschnittlichen Werte des Zetapotentials für beide Formulierungen über die gesamte Lagerung sehr eng beieinander. Es wurden für beide Formulierungen Werte zwischen -40 mV und -46 mV gemessen. Aufgrund dieses sehr geringen Unterschiedes kann man anhand des Zetapotentials nicht sagen, welche Formulierung stabiler war. Auffällig war jedoch, dass NE B mit Ginseng im Vergleich mit NE A mit Ginseng eine größere Schwankung in der Standardabweichung zu verzeichnen hatte. In Bezug auf die Verwendung von destilliertem Wasser bzw. von der 0,1 mM NaCl-Lösung konnten nur minimale Unterschiede wahrgenommen werden.

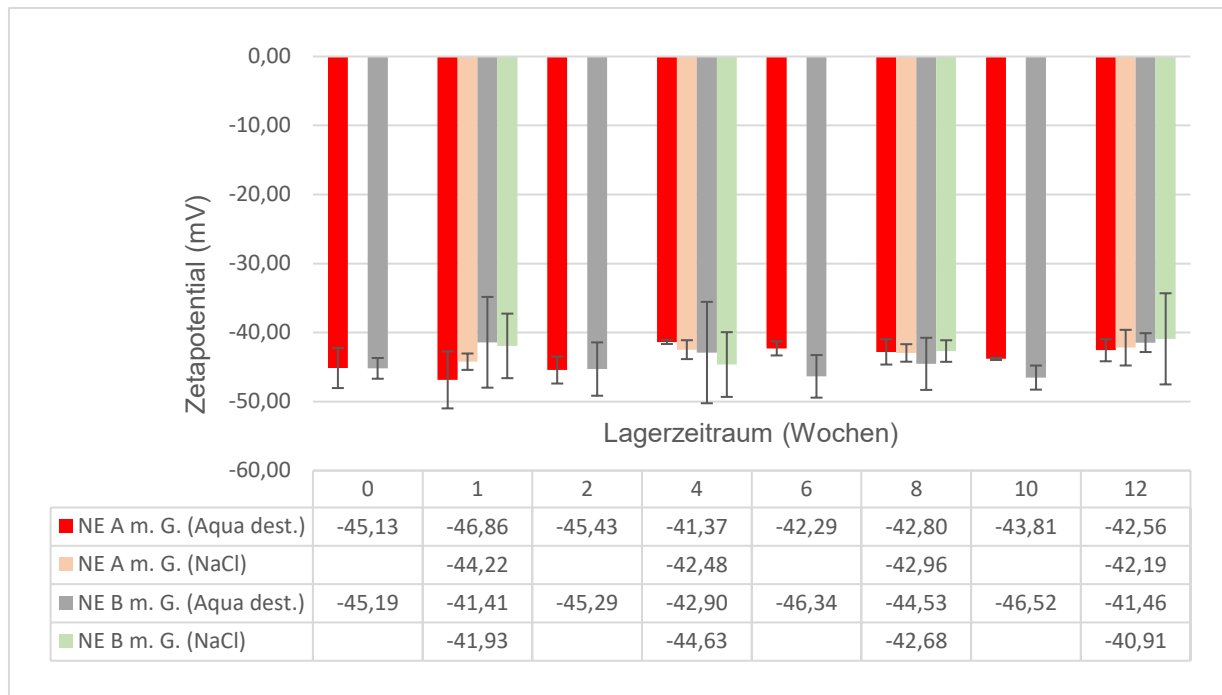


Abbildung 31: Zetapotential der NE A m. G. und NE B m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

Polydispersitätsindex:

Wie man in Abbildung 32 erkennt, befanden sich die durchschnittlichen PDI-Werte für NE B mit Ginseng über den gesamten Lagerzeitraum unter einem Wert von 0,100. Aber auch die Werte von NE A mit Ginseng lagen alle zwischen 0,100 und 0,120. Somit zeigten beide Formulierungen eine enge Partikelgrößenverteilung und waren hinsichtlich ihres PDIs als gleichwertig anzusehen. Die Standardabweichung für NE B mit Ginseng war tendenziell etwas höher als im Vergleich mit NE A mit Ginseng.

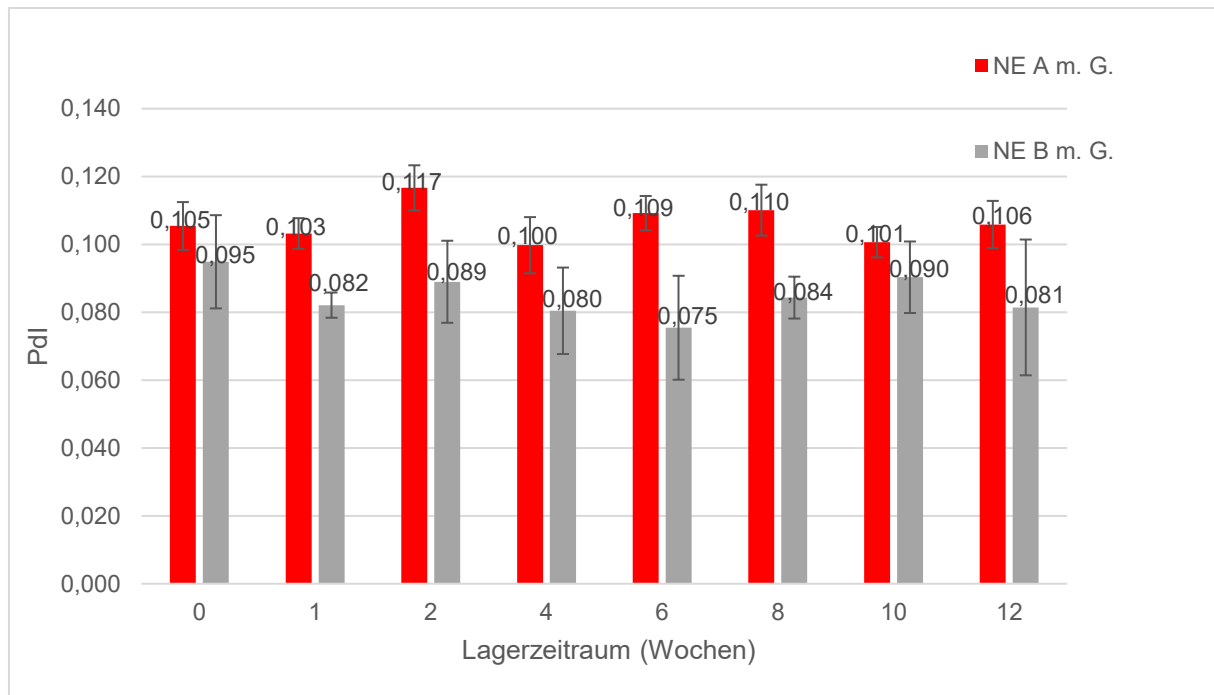


Abbildung 32: PDI der NE A m. G. und NE B m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

pH-Wert:

In Abbildung 33 erkennt man, dass die durchschnittlichen pH-Werte der Proben von NE A mit Ginseng stärker über den Lagerzeitraum von 12 Wochen absinken als im Vergleich mit den durchschnittlichen pH-Werten der Proben von NE B mit Ginseng. Die Differenz von Woche 0 zu Woche 12 beträgt für NE A mit Ginseng einen Wert von 0,85; dagegen liegt die Differenz für NE B mit Ginseng nur bei einem Wert von 0,38. Es ist aber auch zu beachten, dass die Standardabweichung für beide Formulierungen ab den Messungen in Woche 4 sehr hoch war und die Aussagekraft dieser Messungen deshalb begrenzt ist.

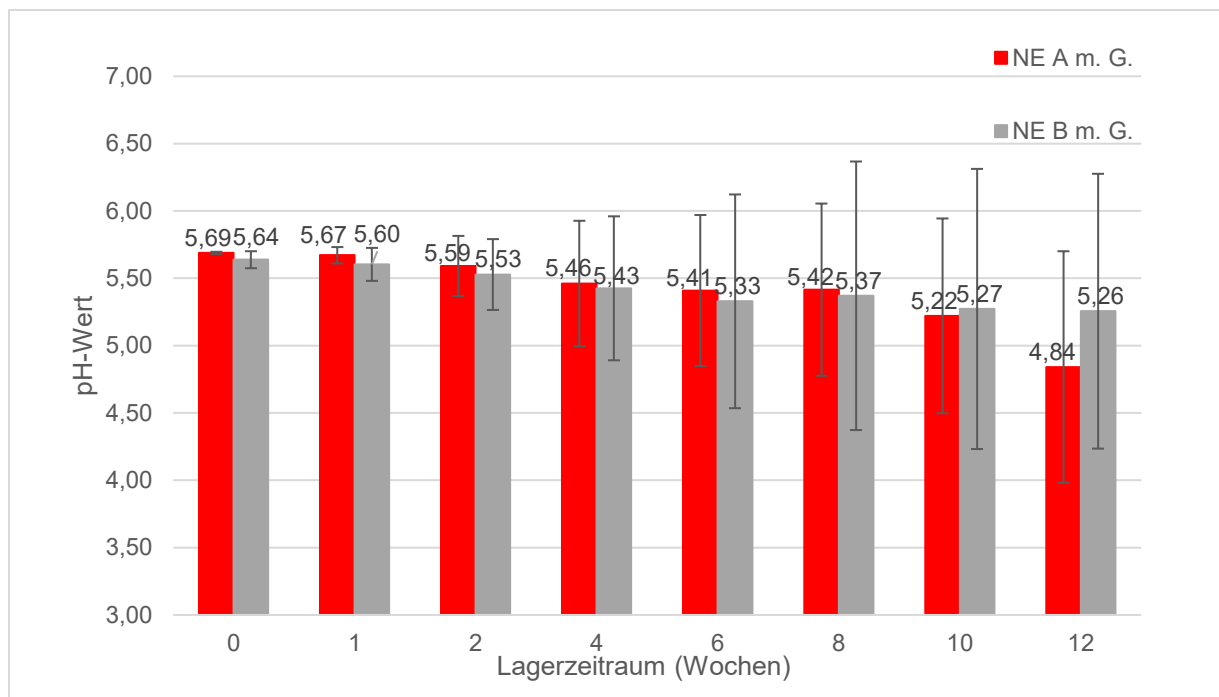


Abbildung 33: pH-Wert der NE A m. G. und NE B m. G. nach Herstellung (Woche 0) und im Verlauf über 12 Wochen

5.3.5. Ergebnisse der rheologischen Messungen

Je drei Proben von NE A o. G. und NE A m. G. bzw. NE B o. G. und NE B m. G. wurden mithilfe des Rheometers über zwölf Wochen (Woche 0, Woche 1, Woche 2, Woche 4, Woche 8, Woche 12) vermessen. Bei diesen Messungen wurde, wie in Kapitel 4 erwähnt, das Modular Compact Rheometer MCR 302 von der Firma Anton Paar GmbH (Graz, AT) verwendet. Es wurde die Zylinder-Becher-Methode mit einem Doppelspaltzylinder (DG 27) als Messsystem angewandt. Für den Doppelspaltzylinder war ein Probenvolumen von mindestens 7,27 ml notwendig. Vor der Messung wurde die jeweilige Probe ein paar Sekunden manuell geschüttelt. Danach wurde mithilfe einer Vollpipette ein Probenvolumen von 10 ml entnommen und in das Messsystem eingebracht. Die Messung wurde mithilfe der Software RheoCompass von Anton Paar durchgeführt. Die Temperatur während der Messung lag konstant bei 23°C. Da die Probenmenge pro Emulsion jedoch insgesamt nur 20 g betrug, wurde die entnommene Probe nach der Messung wieder in das Lagergefäß rückgeführt und somit für die nächste Messung wiederverwendet. Bevor eine andere Formulierung in das Messsystem eingebracht wurde, wurde der Doppelspaltzylinder mit Ethanol 70% (v/v) ausgespült und anschließend trocknen gelassen. Zwischen den Messungen verschiedener Proben, die aber die gleiche Formulierung beinhalteten, wurde das Messsystem aus zeitlichen Gründen jedoch nicht gereinigt. In den nachfolgenden Diagrammen ist immer der Mittelwert der Proben (n=3) derselben Formulierung dargestellt. Die Standardabweichung ($\pm$ STABW) wurde nur bei den Interpolations-Diagrammen angegeben, da die Fließ- und Viskositätskurven ansonsten zu unübersichtlich wären. Bei den Fließkurven wählte man für die Scherrate Grenzen von 1 /s (Minimum) und 100 /s (Maximum).

NE A f. Rh.:

In den Abbildungen 34 und 35 ist zu erkennen, dass die Schubspannung bei beiden Formulierungen mit steigender Scherrate zunahm. Beide Formulierungen zeigten somit kein Fließverhalten nach Newton, stattdessen war ein scherverdünnendes Fließverhalten ersichtlich. Wenn man nun beide Formulierungen miteinander vergleicht, ist auffällig, dass die Formulierung mit Ginseng ab Woche 8 eine sehr hohe Steigerung der Schubspannung, um etwa +50% seit Woche 4, erfuhr. In Woche 12 war sogar eine Steigerung der Schubspannung von knapp +150%, bezogen auf den Wert in Woche 4, ersichtlich. In Woche 12 wurde für die Formulierung mit Ginseng ein

Höchstwert von knapp 0,800 Pa gemessen. Dagegen war die Steigerung der Schubspannung der Formulierung ohne Ginseng über den gesamten Lagerzeitraum nur gering mit Werten zwischen 0,0001 und 0,400 Pa.

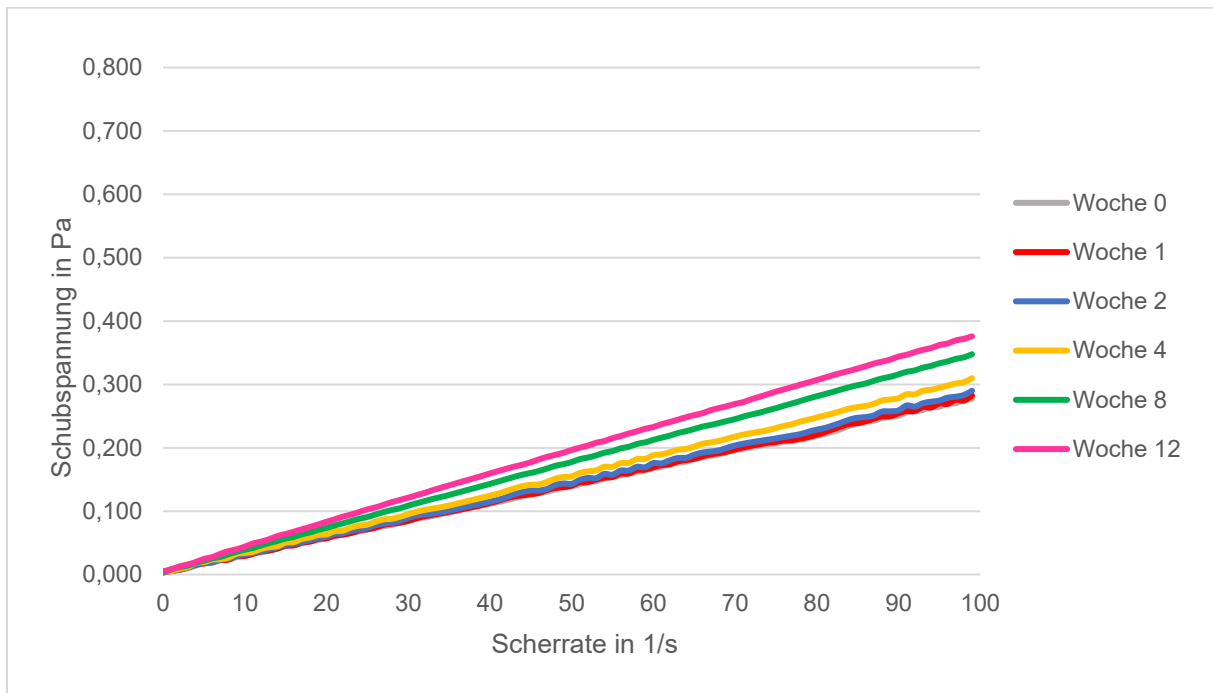


Abbildung 34: Fließkurven von NE A o. G. f. Rh. über 12 Wochen: Zunahme der Schubspannung (Kraft) bei steigender Scherbeanspruchung (Scherrate)

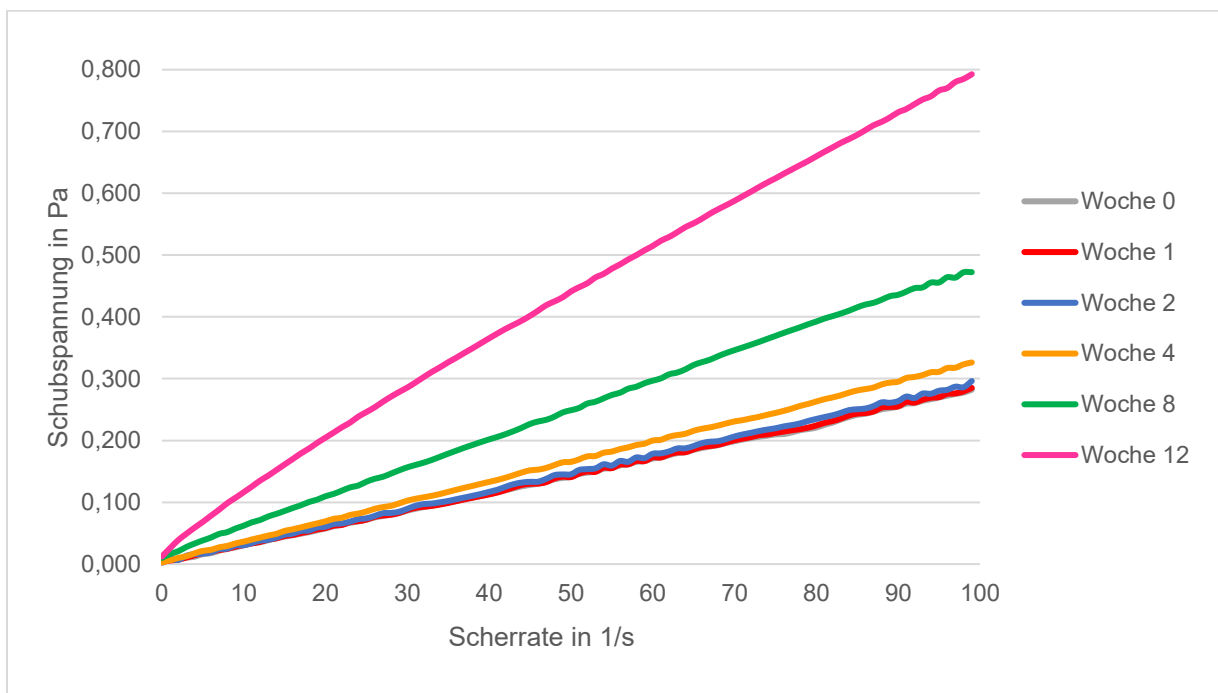


Abbildung 35: Fließkurven von NE A m. G. f. Rh. über 12 Wochen: Zunahme der Schubspannung (Kraft) bei steigender Scherbeanspruchung (Scherrate)

Anhand der Viskositätskurven in den Abbildungen 36 und 37 sieht man, dass die Nanoemulsionen beider Formulierungen nach der Herstellung, also in Woche 0 eine niedrige Viskosität besaßen. Bei steigender Scherbeanspruchung sank die Viskosität bei beiden Formulierungen und es kam zu einer Verflüssigung der Systeme. Es ist dabei aber zu erwähnen, dass es vor allem bei Messwerten unter 10 /s vermehrt zu Schwankungen kommen kann und deshalb eignen sich Messwerte ≥ 10 /s etwas besser für Vergleiche. Besonders auffällig ist aber auch in diesen Grafiken, dass sich die Viskosität der Formulierung mit Ginseng ab Woche 8 signifikant erhöhte und in Woche 12 sogar ein Höchstwert von knapp 13 mPa*s erreicht wurde. Wie bereits erwähnt, spricht man hier von einer Steigerung von +50% in Woche 8 und +150% in Woche 12, beides im Vergleich zur Woche 4. Die Viskositätswerte der Proben ohne Ginseng erhöhten sich während der Lagerung ebenfalls, blieben aber dennoch im Vergleich zu den Proben mit Ginseng in einem engen Bereich bei Werten zwischen 2,60 und 4,85 mPa*s.

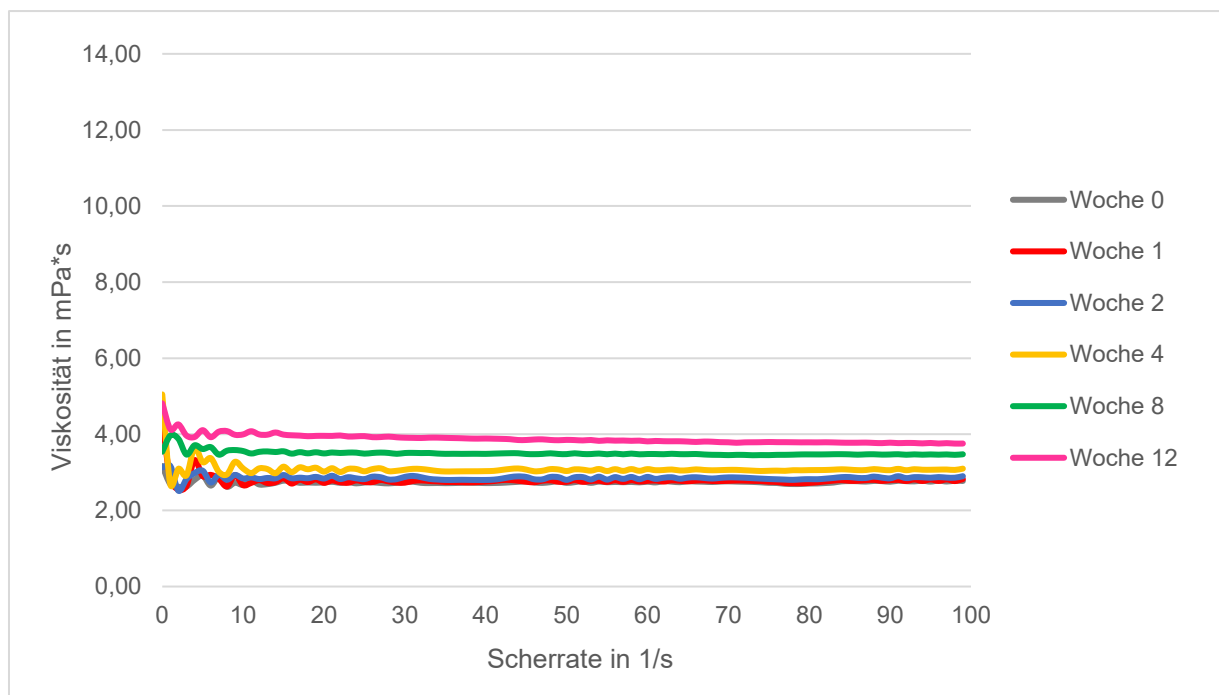


Abbildung 36: Viskositätskurven von NE A o. G. f. Rh. über 12 Wochen: Bei steigender Scherbeanspruchung (Scherrate) sinkt die Viskosität (Scherverflüssigung)

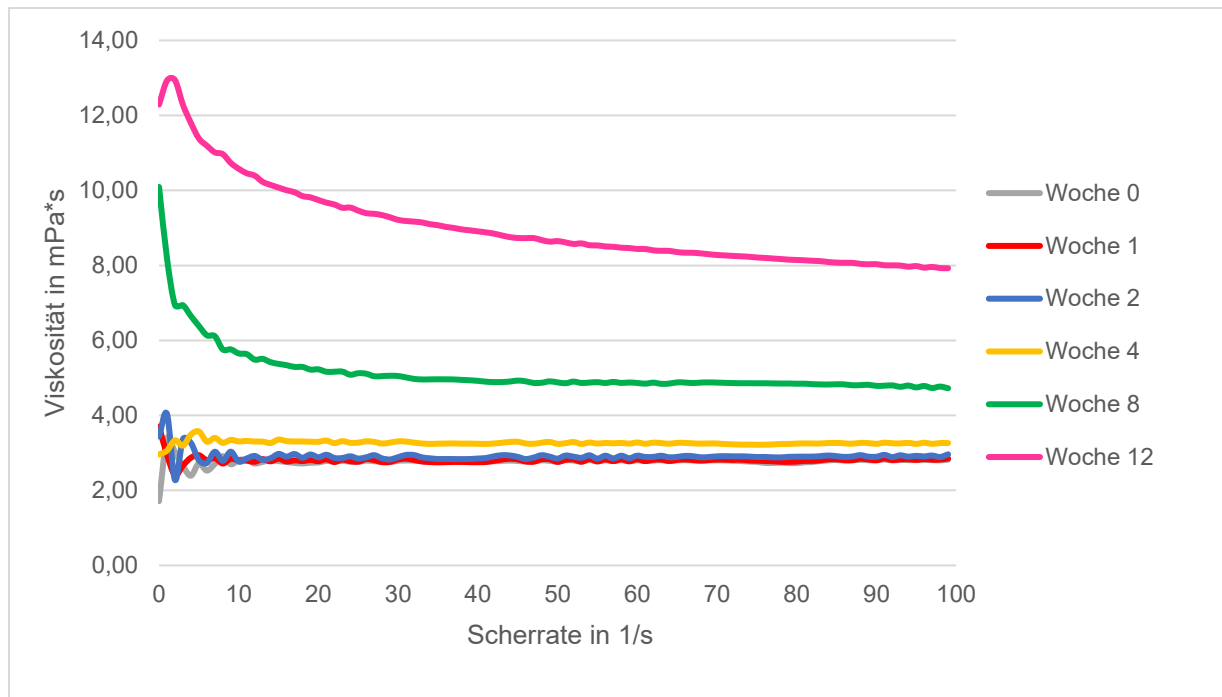


Abbildung 37: Viskositätskurven von NE A m. G. f. Rh. über 12 Wochen: Bei steigender Scherbeanspruchung (Scherrate) sinkt die Viskosität (Scherverflüssigung)

Um die Formulierungen mit und ohne Ginseng besser vergleichen zu können, wurde ein konkreter Messwert bei einer bestimmten Scherrate, hier 10 /s, gewählt. In der Abbildung 38 lässt sich somit die dynamische Viskosität der Formulierungen NE A ohne Ginseng und NE A mit Ginseng über den Lagerzeitraum von 12 Wochen direkt miteinander vergleichen. Man erkennt, dass sich die dynamische Viskosität bei den Proben mit Ginseng ab Woche 8 signifikant erhöhte und in Woche 12 sogar einen durchschnittlichen Wert von über 10 mPa*s annahm. Während der Lagerung stieg die dynamische Viskosität also um das Vierfache an, bezogen auf den Wert direkt nach der Herstellung. Im Gegensatz dazu waren die durchschnittlichen Werte der Formulierung ohne Ginseng über die gesamte Lagerung annähernd konstant mit Werten zwischen 2,70 und 4,00 mPa*s. Auffällig ist auch, dass die Standardabweichung für beide Formulierungen bis zur Woche 4 sehr kleine Werte annahm, danach konnte man aber eine höhere Standardabweichung bei beiden Formulierungen erkennen. Besonders die Formulierung mit Ginseng hatte in Woche 12 eine sehr hohe Standardabweichung zu verzeichnen. Aufgrund der konstanten Messwerte der Formulierung ohne Ginseng konnte diese hinsichtlich ihrer rheologischen Eigenschaften über den gesamten Lagerzeitraum von 12 Wochen als stabil angesehen werden. Die Formulierung mit Ginseng war im Gegensatz dazu nur in den ersten vier Wochen der Lagerung stabil.

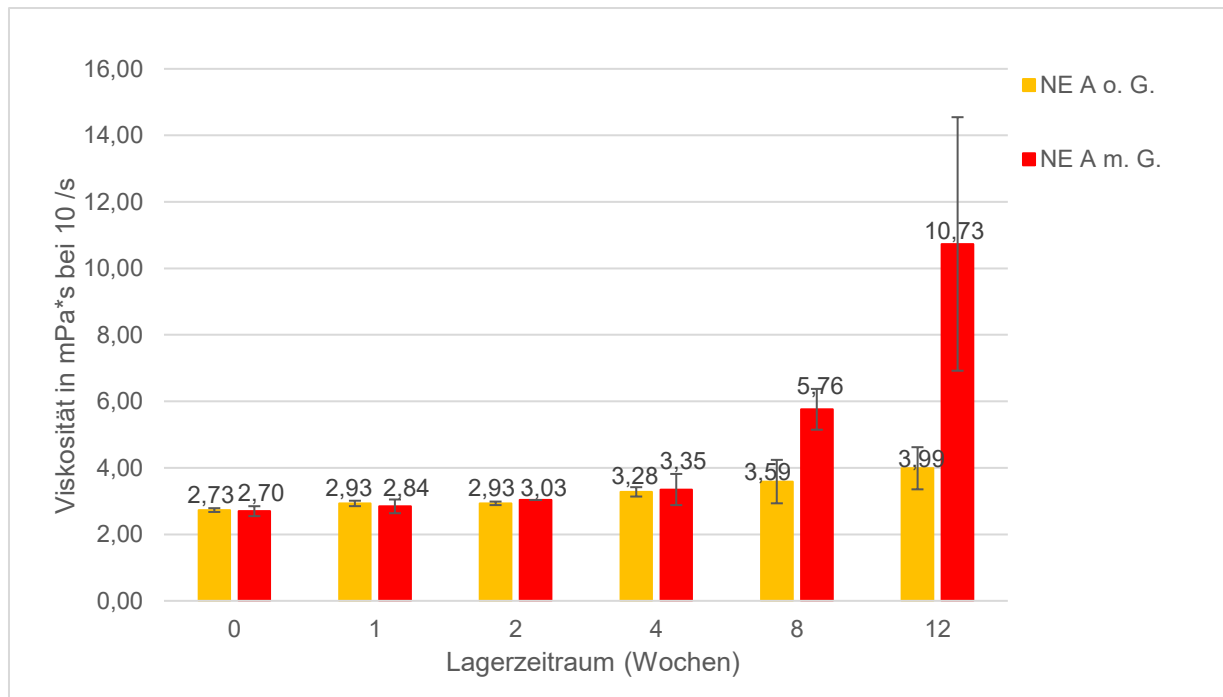


Abbildung 38: Interpolation von NE A o. G. f. Rh. und NE A m. G. f. Rh. bei 10 /s über 12 Wochen

NE B f. Rh.:

In den Abbildungen 39 und 40 ist zu erkennen, dass beide Formulierungen ein scherverdünnendes Fließverhalten zeigten. Die Werte der Schubspannung lagen für beide Formulierungen in einem sehr ähnlichen, tendenziell engen, Bereich. Die Formulierung ohne Ginseng nahm Werte zwischen 0,000 und 0,420 Pa an und die gemessenen Werte der Formulierung mit Ginseng lagen zwischen 0,000 und 0,409 Pa. Bei der Formulierung mit Ginseng war jedoch auffällig, dass es in Woche 8 zu einer signifikanten Schwankung der Messwerte kam, da eine der drei Proben bei dieser Messung signifikant höhere Werte als die anderen zwei Proben zeigte. In Woche 12 war diese Schwankung aber nicht mehr sichtbar. Es ist unklar, weshalb diese Probe nur in Woche 8 höhere Werte hinsichtlich der Schubspannung zeigte. Es wären noch mehr Messdaten erforderlich, um die Plausibilität dieser einzelnen Messung zu überprüfen.

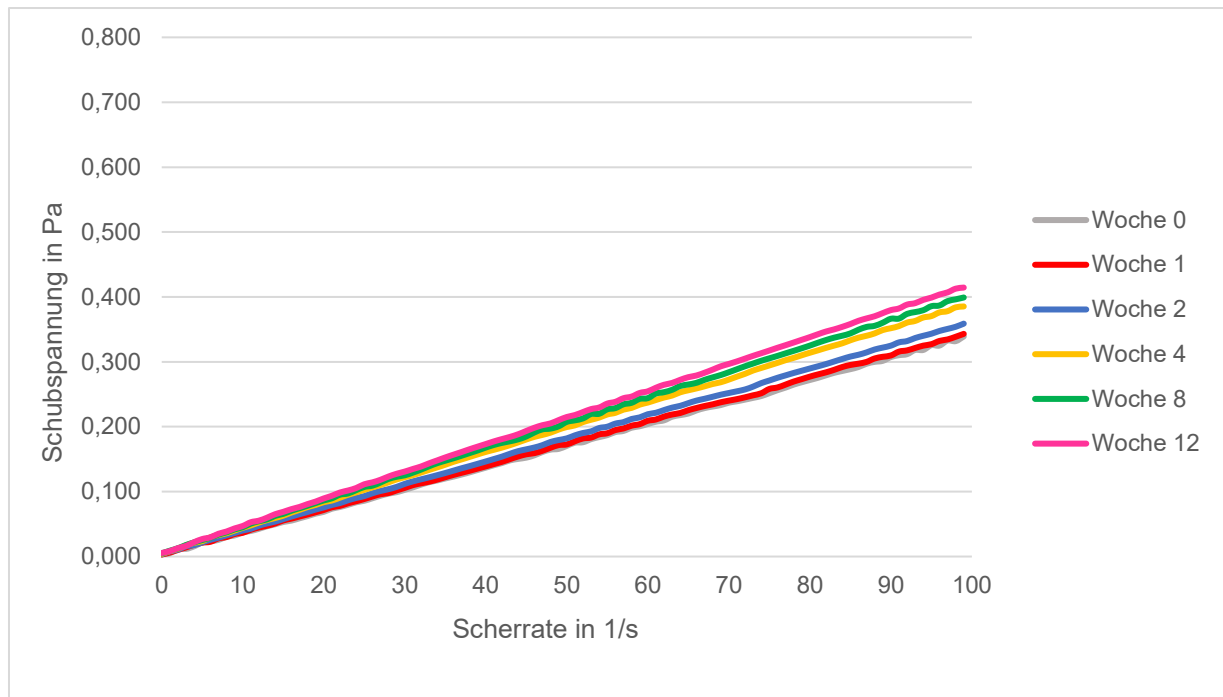


Abbildung 39: Fließkurven von NE B o. G. f. Rh. über 12 Wochen: Zunahme der Schubspannung (Kraft) bei steigender Scherbeanspruchung (Scherrate)

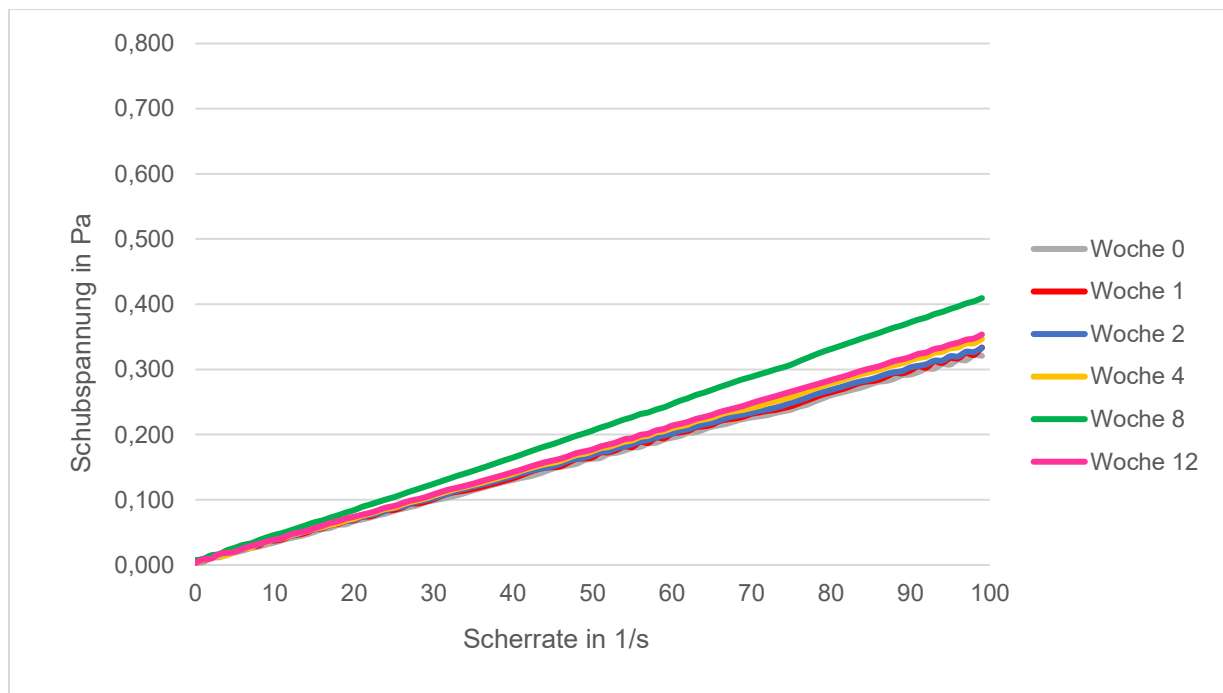


Abbildung 40: Fließkurven von NE B m. G. f. Rh. über 12 Wochen: Zunahme der Schubspannung (Kraft) bei steigender Scherbeanspruchung (Scherrate)

Wie man in Abbildung 41 erkennen kann, lagen die Viskositätskurven der Formulierung ohne Ginseng über den Lagerzeitraum von 12 Wochen mit Werten zwischen 2,90 und 5,47 mPa*s eng beieinander. Die Messwerte der Formulierung mit Ginseng waren mit Werten zwischen 2,20 und 7,06 mPa*s im Vergleich zur Formulierung ohne Ginseng etwas weiter auseinander, wie man in Abbildung 42 erkennen kann. Es zeigte sich für die Formulierung mit Ginseng, wie bereits bei den Fließkurven erwähnt, in Woche 8 auch bei den Viskositätskurven eine Schwankung. Diese Schwankung kann auf die Messung einer einzelnen Probe zurückgeführt werden. In Woche 12 war diese Schwankung auch hinsichtlich der Viskosität nicht mehr sichtbar. Es wären mehr Messdaten erforderlich, um eine Erklärung für diesen Ausreißer zu finden.

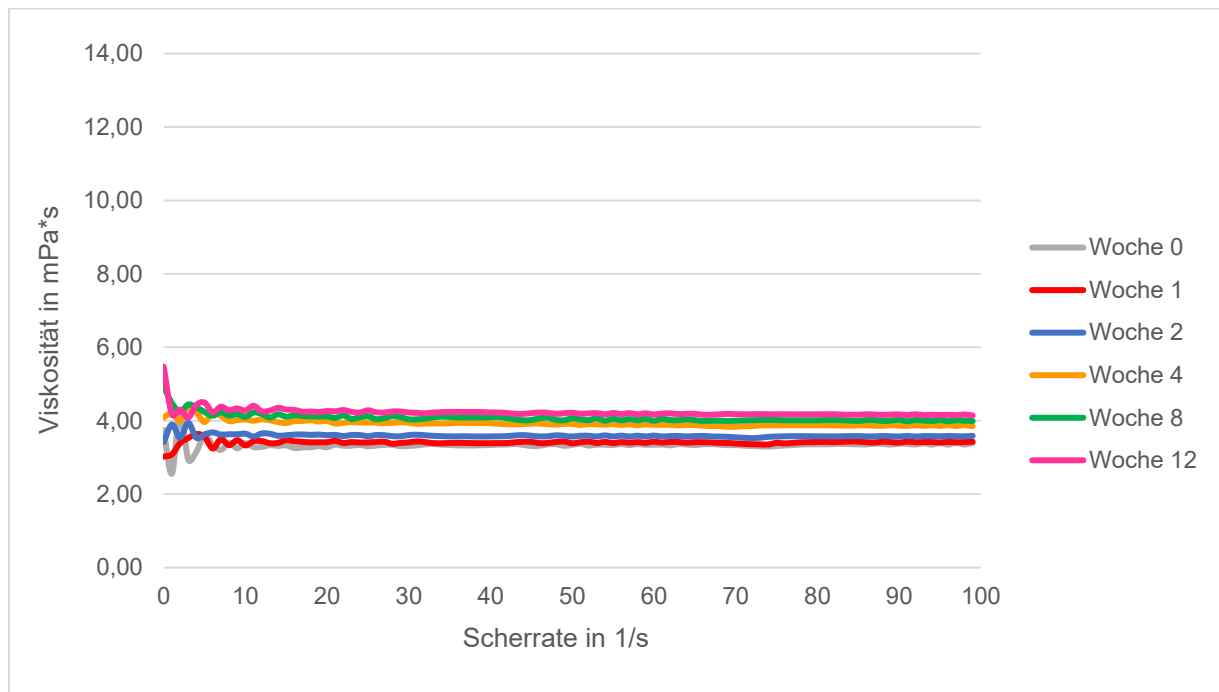


Abbildung 41: Viskositätskurven von NE B o. G. f. Rh. über 12 Wochen: Bei steigender Scherbeanspruchung (Scherrate) sinkt die Viskosität (Scherverflüssigung)

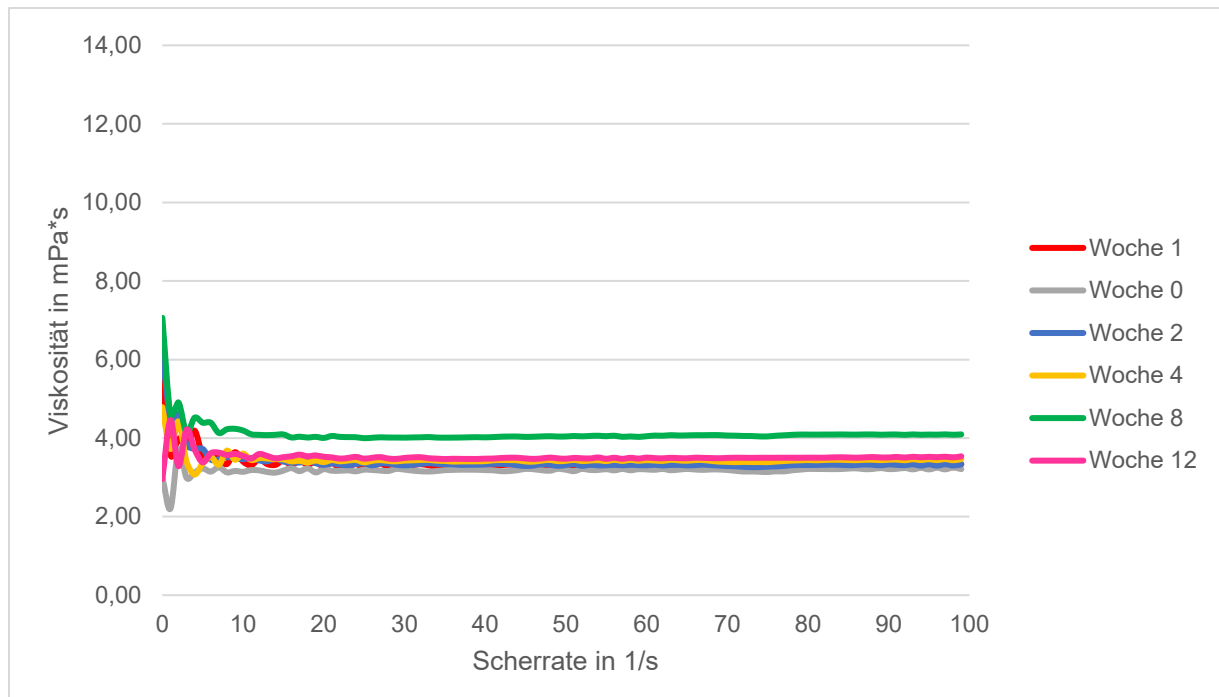


Abbildung 42: Viskositätskurven von NE B m. G. f. Rh. über 12 Wochen: Bei steigender Scherbeanspruchung (Scherrate) sinkt die Viskosität (Scherverflüssigung)

Die Abbildung 43 zeigt die Interpolation der Formulierungen mit und ohne Ginseng bei dem Messwert 10 /s. Man sieht in der Grafik, dass die dynamische Viskosität bei der Formulierung ohne Ginseng während der gesamten Lagerung ziemlich konstante Werte zwischen 3,25 und 4,34 mPa*s aufwies. Auch die Standardabweichung war bei allen Messungen der Formulierung ohne Ginseng gering. Die Werte der Formulierung mit Ginseng lagen zwischen 3,16 und 4,24 mPa*s und waren somit über die gesamte Lagerung konstant. Die Standardabweichung war jedoch für diese Formulierung besonders in Woche 8, aufgrund des Ausreißers, hoch. Da beide Formulierungen jedoch tendenziell konstante Messwerte zeigten, liegt die Vermutung nahe, dass beide Formulierungen über den gesamten Lagerzeitraum von 12 Wochen stabil waren.

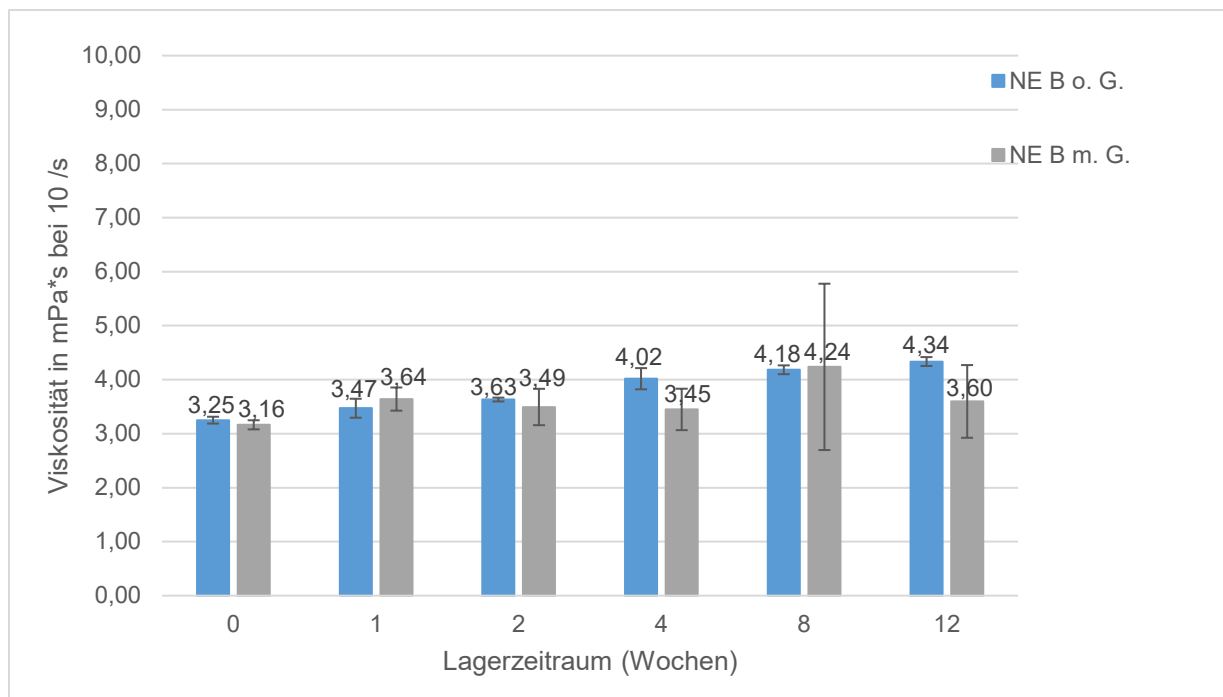


Abbildung 43: Interpolation von NE B o. G. f. Rh. und NE B m. G. f. Rh. bei 10 /s über 12 Wochen

5.3.6. Permeationsversuche mit Franz-Diffusionszellen

Aufbau und Versuchsdurchführung:

In dieser Arbeit wurden für den Permeationsversuch NE A m. G. (2,5% Lysolezithin + 2,5% Lezithin+ 2% Ginseng-Trockenextrakt) und NE B m. G. (2,5% Lysolezithin + 2,5% Polysorbat 80 + 2% Ginseng-Trockenextrakt) verwendet. Die Herstellung und die verwendeten Bestandteile sind in Kapitel 5.2. nachlesbar. Als Vergleichslösung wurde eine 2%ige (m/m) wässrige Lösung des Ginseng-Trockenextrakts frisch hergestellt und verwendet. Für einen Versuch wurden jeweils fünf Franz-Zellen (Aufbau einer Franz-Zelle ist im Kapitel 4.6. beschrieben) mit NE A m. G., NE B m. G., sowie der wässrigen Lösung mit Ginseng präpariert. Dieser Versuchsaufbau wurde insgesamt drei Mal durchgeführt (n=3), um Reproduzierbarkeit zu gewährleisten. Als Membran diente für diesen Versuch 0,4 mm dicke dermatomisierte Schweinehaut. Für jeden Versuchsdurchgang wurden etwa vier Schweineohren verwendet. Die Ohren wurden am Tag der Schlachtung (Februar 2022) vom Schlachthof abgeholt und am gleichen Tag präpariert (=gewaschen, geschnitten) und bei ca. -18°C eingefroren. Es wurden ein paar Tage vor dem Versuch Hautstücke mithilfe eines Akku-Dermatoms GA 630 von der Firma Aesculap® (Tuttlingen, DE), zu sehen in Abbildung 44, geschnitten, die anschließend bei -18°C wieder gelagert wurden. Für den Versuch wurde diese Haut dann aufgetaut und in 1x1 cm große Hautstücke zugeschnitten, da die Fläche der Diffusionszellen 0,95 cm² beträgt.

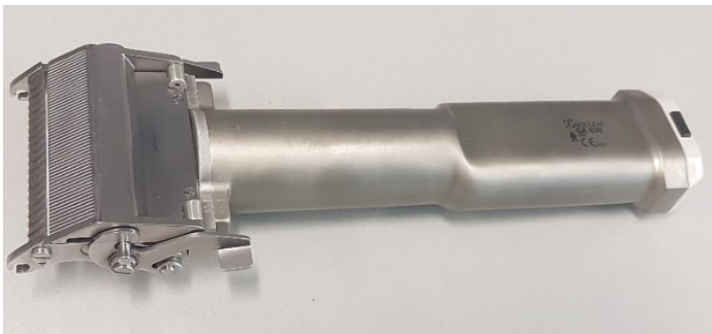


Abbildung 44: AKKU-Dermatom GA 630 von der Firma Aesculap®

Mit dem AquaFlux™ AF200 von der Firma Biox Systems Ltd. (London, UK) wurde dann der TEWL (=Transepidermal Water Loss, Transepidermaler Wasserverlust) bei sechs bzw. sieben Membranen gemessen. Für diese Messungen wurden die Proben zufällig ausgewählt. Man hat aber darauf geachtet, dass von jeder Formulierung (NE A m. G., NE B m. G., wässrige Kontrolllösung) mindestens zwei Proben vermessen wurden. Mit dieser Messung wurde überprüft, ob die Hautbarrieren der

Membranen zu Versuchsbeginn intakt waren. Da die Werte alle unter 15 g/m²/h (die exakten Messwerte sind im Anhang dieser Arbeit zu finden) lagen, schlussfolgerte man, dass die Hautbarrieren zu Beginn des Versuchs alle intakt waren.

Auf die Membran wurde dann mit einer Eppendorf®-Pipette 500 mg Probe aufgetragen und diese Haut wurde dann ins Donor-Kompartiment übergeführt und der Glasaufsatz der Donor-Kammer wurde mit Parafilm abgedeckt. Als Akzeptormedium kam ein Phosphatpuffer zum Einsatz. Dieser Puffer hatte einen pH-Wert von 7,45 und wurde vor den Versuchen frisch hergestellt. Die Zusammensetzung des Puffers ist in Tabelle 8 aufgelistet.

Tabelle 8: Zusammensetzung des verwendeten Puffers mit pH-Wert 7,45

Menge	Bestandteile	Firma	Cas-Nummer:
0,19 g	Kaliumdihydrogenphosphat	Sigma Aldrich, (St. Louis, US)	7778-77-0
2,38 g	Dinatriumhydrogenphosphat ×12 H ₂ O	Sigma Aldrich, (St. Louis, US)	10039-32-4
8,00 g	Natriumchlorid	ACM Herba Chemosan, (Wien, AT)	7647-14-5

Alle Bestandteile des Puffers wurden in einen Messkolben, der 1000,0 ml fasste, eingewogen und anschließend wurde mit destilliertem Wasser bis zur Marke des Kolbens aufgefüllt. Dieser Puffer wurde dann luftblasenfrei in das Akzeptor-Kompartiment bis zum Meniskus (ca. 2,0 ml) eingebracht und das Glasstück für die Probenentnahme wurde mit Alufolie bedeckt, um das Verdunsten der Probe zu verhindern. Ein Magnetrührstäbchen wurde in das Akzeptormedium eingebracht und rührte während dem ganzen Versuch konstant bei 800 U/min. Für die Probenentnahme wurden Intervalle nach 2, 4, 6, 8, 24 und 28 h festgelegt. Nach diesen besagten Intervallen wurde das gesamte Akzeptormedium mit einer Pasteurpipette aus der Franz-Zelle entnommen und in ein Eppendorf®-Tube übergeführt. Aus diesem Tube wurden dann 200,0 µl mit einer Eppendorf®-Pipette entnommen und in ein weiteres Eppendorf®-Tube übergeführt. Diese Eppendorf®-Tubes wurden anschließend bis zur Analyse der Proben bei ca -18 bis -20°C eingefroren. Die restliche Menge des entnommenen Mediums wurde dann mithilfe einer Pasteurpipette in die Franz-Zelle rückgeführt und es wurde zusätzlich 200,0 µl frisches Akzeptormedium,

das auf 32°C temperiert war, mit einer Eppendorf®-Pipette hinzugefügt. Der ganze Versuch fand in einem 32°C temperiertem Wasserbad GFL 1092 von der Firma Müller-Scherr (Linz, AT) statt. Die 32°C sollen die Temperatur der Hautoberfläche simulieren. Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 45 dargestellt.

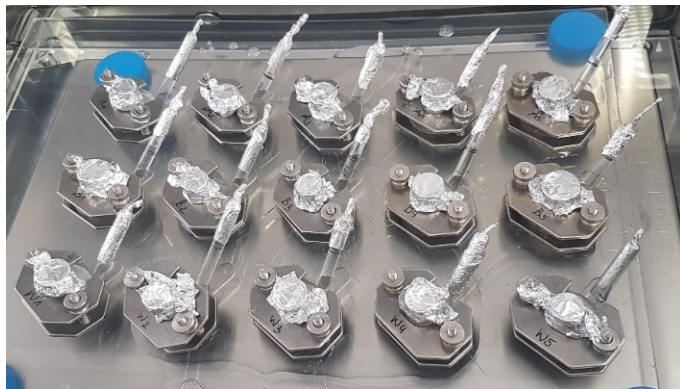


Abbildung 45: Aufbau des Permeationsversuchs mit Franz-Diffusionszellen im temperierten Wasserbad (32°C)

Probenaufbereitung für die Analyse:

Um die gefrorenen Proben, die sich in Eppendorf®-Tubes befanden, für die Analyse vorbereiten zu können, wurden sie aus dem Tiefkühler genommen und bei Raumtemperatur (ca. 25°C) aufgetaut. Dieser Vorgang dauerte etwa 1 h. Danach gab man mit einer Eppendorf®-Pipette in jedes Eppendorf®-Tube zusätzlich zu der 200 µl Probe jeweils 100 µl Methanol hinzu. Man hatte dann eine 2+1 Verdünnung vorliegen. Methanol (CAS: 67-56-1) wurde von der Firma VWR® (Radnor, US) bezogen. Die Proben wurden anschließend ein paar Sekunden mithilfe des Vortexmischers REAX 2000 von der Firma Heidolph Instruments (Schwabach, DE) geschüttelt und somit homogenisiert. Die Eppendorf®-Tubes wurden dann erneut für 30 min bei ca. -18 bis -20°C tiefgekühlt. Danach wurden die Eppendorf®-Tubes 6 min bei 12 000 rpm Umdrehungen und einer Temperatur von 25°C zentrifugiert. Dafür verwendete man die Zentrifuge Z 323 K von der Firma Hermle Labortechnik GmbH (Wehingen, DE). Als letzten Schritt pipettierte man für jede Probe 200 µl der Probe-Methanol-Mischung in eine 96-Well-Platte. Es wurden insgesamt drei 96-Well-Platten mit Proben gefüllt, da man für jeden Franz-Zellen-Durchgang eine Platte anfertigte. Die drei Platten wurden anschließend für die Analyse durch Dr. Ammar Tahir, MSc. von der Division für Pharmakognosie an der Universität Wien übergeben.

Methode und Evaluierung der Kalibrierkurve für die Analyse:

Für die Analyse der Ginsenoside wurde ein UHPLC Gerät mit einem LTQ-XL™-Massenspektrometer verwendet. Man hatte die Ginsenoside Rb1 und Rg1 als Standards zur Verfügung und konnte diese mit Methanol als Lösungsmittel bei einer Konzentration von 1 mg/ml vermessen. Mithilfe dieser Messergebnisse konnte man dann die Retentionszeiten sowie die molaren Massen (in g/mol) bestimmen und folglich diese gewonnenen Messwerte mit den tatsächlichen molaren Massen vergleichen. Die Standards dienten in weiterer Folge auch zur Anfertigung von Verdünnungsreihen, die man für die Generierung der Kalibrierkurve benötigte. Diese Kurve diente dann sowohl bei den Gehaltsbestimmungen der Nanoemulsionen als auch bei den Proben der Permeationsversuche zur Quantifizierung unbekannter Konzentrationen der Ginsenoside.

Ergebnisse der Analyse:

In Tabelle 9 sind die Werte für NE B m. G. und der wässrigen Kontrolllösung erst ab Stunde 6 bzw. für NE A m. G. sogar erst ab Stunde 8 eingetragen, da bis zu diesem Zeitpunkt nur Spuren des Ginsenosids Rg1 nachgewiesen werden konnten.

Tabelle 9: Permeierte Menge des Ginsenosids Rg1 in µg/ml über 28 Stunden

Zeit (Stunden)	NE A m. G.	STABW	NE B m. G.	STABW	Wässrige Kontrolle	STABW
6	0,00	±0,00	1,08	±0,68	5,59	±2,93
8	1,03	±0,46	1,42	±0,81	6,40	±3,34
24	4,31	±0,78	3,33	±1,18	9,38	±2,66
28	5,23	±0,81	3,75	±1,27	10,02	±1,96

In Abbildung 46 ist der Mittelwert der Proben (n=3) derselben Formulierung sowie die Standardabweichung (±STABW) dargestellt. In dieser Abbildung sieht man, dass alle drei Kurven das Maximum der permeierten Menge des Ginsenosids Rg1 nach 28 Stunden erreichten. Auch eindeutig zu erkennen ist, dass das Ginsenosid Rg1 aus der wässrigen Kontrolllösung im Vergleich zu den beiden Nanoemulsionen signifikant besser freigesetzt werden konnte. Wenn man jedoch den Kurvenverlauf der wässrigen Kontrolllösung genauer ansieht, lässt sich ab Stunde 8 eine Sättigung des Akzeptors vermuten. Vergleicht man nun die beiden Nanoemulsionen miteinander, war die permeierte Menge des Ginsenosids Rg1 bei NE A m. G. ab Stunde 13 höher als bei

NE B m. G. Auf den ersten Blick zeigt sich somit die Tendenz, dass das Ginsenosid Rg1 besser aus NE A m. G. freigesetzt wurde. Es ist aber auffällig, dass die Kurve von NE B m. G. mit der Zeit leicht abflacht. Das würde darauf hindeuten, dass auch bei NE B m. G. ein kleiner Sättigungseffekt eingetreten ist. Somit liefert die Grafik ein verzerrtes Bild und der Kurvenverlauf von NE B m. G. könnte in Wirklichkeit über dem Verlauf von NE A m. G. liegen. Mit weiteren Untersuchungen müsste abgeklärt werden, inwiefern sich die Nanoemulsionen voneinander unterscheiden, oder ob sie in Wirklichkeit eine sehr ähnliche Freisetzung hinsichtlich des Ginsenosids Rg1 zeigten.

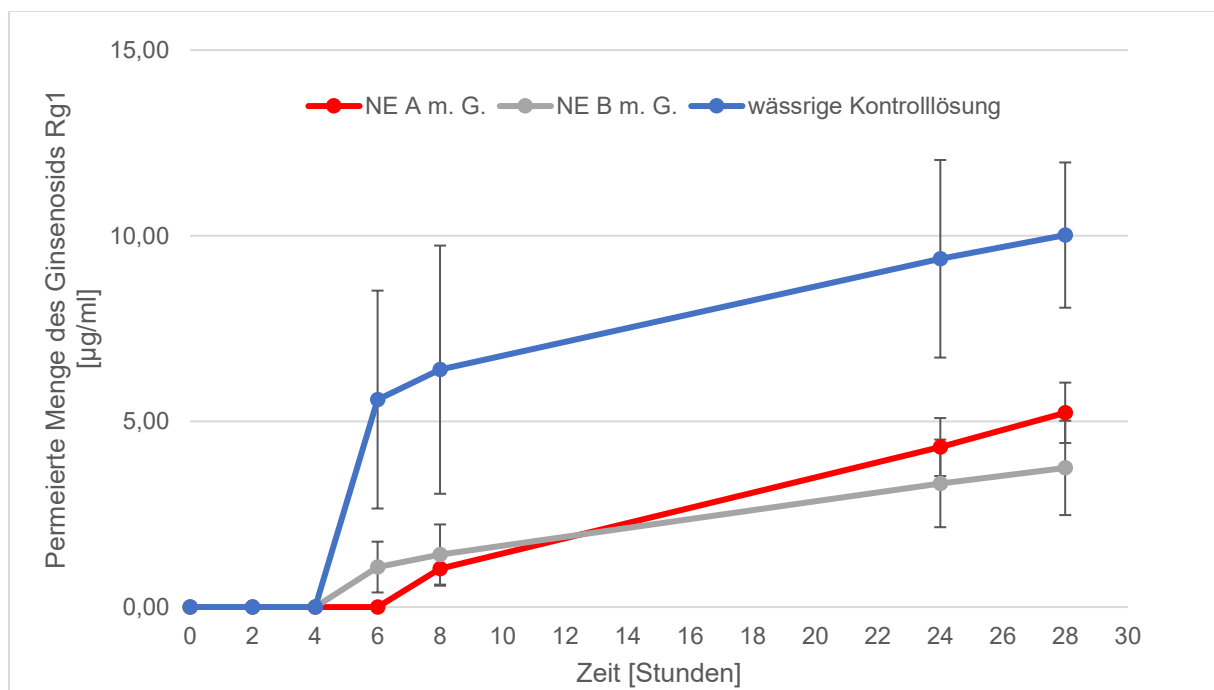


Abbildung 46: Permeierte Menge des Ginsenosids Rg1 in µg/ml über 28 Stunden

Das Ginsenosid Rb1 konnte weder bei den Nanoemulsionen noch bei der wässrigen Kontrolllösung detektiert werden, da es aufgrund der größeren Hydrophilie nicht membrangängig war. Interessanterweise wurde jedoch ein zusätzliches Molekül, das nicht weiter deklariert werden konnte, gefunden. Anhand seiner molekularen Masse wurde die Vermutung aufgestellt, dass es sich bei diesem Molekül um ein Ginsenosid handeln könnte.

5.3.7. Gehalts- und Stabilitätsuntersuchungen mittels UHPLC-MS

Die Gehalts- und Stabilitätsuntersuchungen wurden mittels UHPLC-MS durchgeführt. Für die Messungen wurden jeweils drei Proben von NE A m. G. und NE B m. G. über zwölf Wochen untersucht. Die Messungen fanden in Woche 0, Woche 2, Woche 4, Woche 8 und Woche 12 statt. Die Proben wurden über den gesamten Zeitraum bei Raumtemperatur (ca. 23°C) gelagert. Im nachfolgenden Diagramm ist der Mittelwert der Proben (n=3) derselben Formulierung sowie die Standardabweichung ($\pm$ STABW) dargestellt.

Probenaufbereitung für die Analyse:

Für die Messungen wurde 10 mg der jeweiligen Nanoemulsion in ein 2,0 ml Eppendorf®-Tube übergeführt und mit einer Eppendorf®-Pipette wurden 1000 μ l Methanol hinzugegeben. Methanol (CAS: 67-56-1) wurde von der Firma VWR® (Radnor, US) bezogen. Anschließend wurden die Eppendorf®-Tubes 10 min bei Raumtemperatur (ca. 23°C) mithilfe eines Thermomixers 5436 von der Firma Eppendorf® (Hamburg, DE) geschüttelt. Bis zur Analyse wurden die Proben im Tiefkühler bei ca. -18°C bis -20°C gelagert. Bevor die Proben dann weiter aufbereitet werden konnten, musste man die Eppendorf®-Tubes bei Raumtemperatur (ca. 25°C) auftauen lassen. Danach wurden die Eppendorf®-Tubes für 6 min bei 12 000 rpm Umdrehungen und einer Temperatur von ca. 25°C mithilfe der Zentrifuge Z 323 K von der Firma Hermle Labortechnik GmbH (Wehingen, DE) zentrifugiert. Anschließend konnte man 200 μ l des Probe-Methanol-Gemischs mit einer Eppendorf®-Pipette in eine 96-Well-Platte pipettieren und Dr. Ammar Tahir, MSc. von der Division Pharmakognosie der Universität Wien führte die Analyse mithilfe des Geräts UHPLC Dionex Ultimate 3000 von der Firma Dionex (Sunnyvale, US) durch. Es wurde die Säule Phenomenex™ Omega™ C18, 120 Å, 2,1 x 150 mm verwendet. Als Detektor kam der Massendetektor LTQ-XL™ (=linear ion trap mass spectrometer) von der Firma Thermo Fisher Scientific (Chelmsford, US) zum Einsatz. Die Methode und die Evaluierung der Kalibrierkurve sind im vorherigen Kapitel bei der Analyse der Permeationsversuche beschrieben.

Ergebnisse der Analyse:

In Tabelle 10 sind die absoluten Werte des Ginsenosid Rg1-Gehalts über den Lagerzeitraum von 12 Wochen dargestellt. Es ist in der Tabelle ersichtlich, dass die beiden Nanoemulsionen nach der Herstellung, also in Woche 0, sehr ähnliche Werte zeigten. Statistisch konnte mithilfe des t-Tests kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Nanoemulsionen zu Beginn festgestellt werden.

Tabelle 10: Ginsenosid Rg1-Gehalt in absoluten Werten (µg/ml)

Lagerzeitraum	NE A m. G.	STABW	NE B m. G.	STABW
Woche 0	36,94	±1,76	34,56	±3,37
Woche 2	31,45*	±2,59	33,31	±0,84
Woche 4	33,69	±0,43	32,86	±0,94
Woche 8	28,31**	±0,73	29,05	±1,98
Woche 12	30,28**	±3,08	29,82	±2,74

In Abbildung 47 ist ebenfalls der Gehalt des Ginsenosids Rg1 in absoluten Werten zu sehen. Anhand des Balkendiagramms ist zu erkennen, dass der Gehalt im Laufe der Lagerung bei NE A m. G. abnimmt. Laut dem t-Test handelt es sich hierbei um eine statistisch signifikante Abnahme (siehe * in Tabelle 10) im Vergleich zum Ausgangswert. Somit ist NE A m. G. in Bezug auf den Rg1-Gehalt über den Lagerzeitraum von 12 Wochen als etwas instabiler zu bewerten. Bei NE B m. G. ist eine leichte Abnahme über den Lagerzeitraum von 12 Wochen zu erkennen, die aber laut dem t-Test nicht statistisch signifikant ist. Deshalb kann NE B m. G. über den gesamten Lagerzeitraum von 12 Wochen als stabil hinsichtlich des Rg1-Gehalts klassifiziert werden.

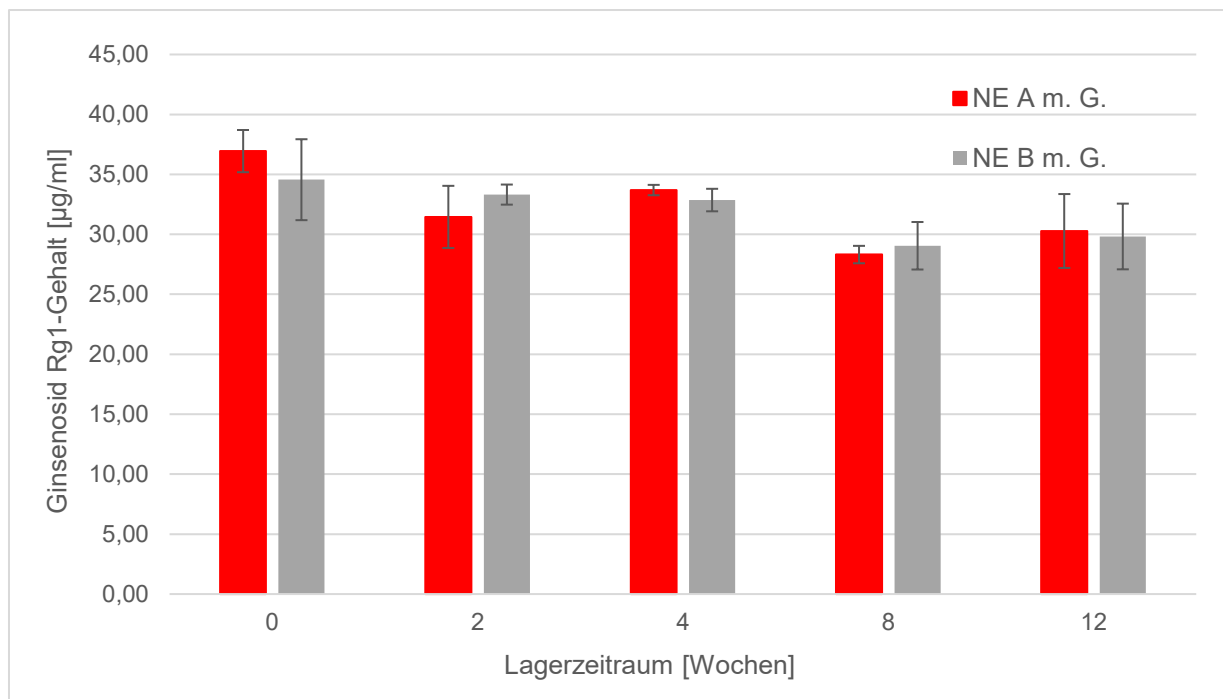


Abbildung 47: Ginsenosid Rg1-Gehalt über 12 Wochen

6. Diskussion

Mit Hilfe von unterschiedlichen Tensidzusammensetzungen konnten stabile lezithin-basierte O/W-Nanoemulsionen mit dem Hochdruckhomogenisator hergestellt werden. Der Panax Ginseng-Trockenextrakt wurde erfolgreich in drei Formulierungen eingearbeitet, wobei die Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchungen dieser Formulierungen sehr unterschiedlich waren. Schon nach Woche 1 zeigten alle drei Proben der Formulierung mit Lezithin/Zuckerester HLB 9 (NE C m. G.) eine Phasentrennung. Dagegen waren die Formulierungen mit Lezithin/Lysolezithin (NE A m. G.) und Lezithin/Polysorbat 80 (NE B m. G.) über den gesamten Lagerzeitraum von 12 Wochen physikalisch stabil.

Die Vermutung liegt also nahe, dass die Zuckerester mit einem HLB-Wert von 9, Eigenschaften aufweisen könnten, die mit den grenzflächenaktiven Ginsenosiden nicht so gut verträglich sind. Eventuell könnte die Verwendung eines Zuckerester-Gemischs bestehend aus zwei Zuckerester, die unterschiedliche HLB-Werte aufweisen, von Vorteil sein.

In der Masterarbeit von Frau Mag. Dekić im Jahr 2021 wurden unterschiedliche Zuckerester-Gemische als Emulgatoren verwendet (5). Eine Nanoemulsion wurde damals mit 1,5% Zuckerester HLB 9; 1,5% Zuckerester HLB 11 und 2% (m/m) Ginseng-Trockenextrakt hergestellt. Während der Herstellung kam es bei dieser Formulierung zu einer Phasentrennung, die aber nach der Hochdruckhomogenisation nicht mehr sichtbar war. Die Stabilität dieser Formulierung wurde vier Wochen lang untersucht. Als Resultat zeigte sich eine Erhöhung der Partikelgröße von 130 nm in Woche 0 auf über 200 nm in Woche 4 und auch der PDI-Wert stieg innerhalb von vier Wochen von 0,1 auf über 0,4 an (5). Die Arbeit von Frau Mag. Dekić zeigte, dass es schwierig ist eine geeignete Kombination von Zuckerester als Emulgatoren für die Einarbeitung des Ginseng-Trockenextrakts zu finden. Die Nanoemulsionen in ihrer Arbeit waren ohne den Ginseng-Trockenextrakt über 12 Wochen stabil, jedoch zeigten die Nanoemulsionen mit dem Ginseng-Trockenextrakt schon nach vier Wochen, die oben beschriebenen Veränderungen und konnten somit über den Lagerzeitraum von vier Wochen nicht als stabil bewertet werden (5).

Ein weiteres Problem der Zuckerester wurde bei der Herstellung der Nanoemulsionen in dieser Arbeit sichtbar. Während der Herstellung musste darauf geachtet werden, dass sich die wässrige Phase, die die Zuckerester beinhaltet, konstant bei hohen Temperaturen zwischen 60 und 70°C befand. Ansonsten kam es zu einer Eindickung und die Phase musste für die Weiterverarbeitung nochmals erwärmt werden.

Somit erhärtete sich die Beobachtung von Frau Mag. Dekić, dass die Zuckerester stark temperaturabhängig sind, denn Mag. Dekić beobachtete bei der Herstellung ihrer Nanoemulsionen, dass diese eine gelartige Konsistenz bekamen, wenn sie abkühlten (5).

Aufgrund dieser Beobachtungen eignen sich die Zuckerester als Emulgator für die Einarbeitung des Ginseng-Trockenextrakts nur bedingt.

Anhand der Charakterisierung der Nanoemulsionen sah man bereits direkt nach der Herstellung, also in Woche 0, signifikante Unterschiede in den Partikelgrößen der Formulierungen. Dieser Unterschied kann mit den unterschiedlichen Tensidzusammensetzungen der Formulierungen begründet werden.

Des Weiteren konnte man bei den Messungen des Zetapotentials beobachten, dass die Zugabe des Ginseng-Trockenextrakts die Nanoemulsionen allgemein destabilisierte. Ohne Ginseng zeigten die Nanoemulsionen höhere Zetapotential-Werte überwiegend zwischen -50 und -60 mV. Mit Ginseng waren die Werte nur zwischen -40 und -45 mV. Dieser Effekt könnte durch positive Ladungsträger im Ginseng-Trockenextrakt erklärt werden.

Auch Frau Mag. Dekić machte im Jahr 2021 bei ihren Messungen die Beobachtung, dass der Ginseng-Trockenextrakt eine destabilisierende Wirkung auf die hergestellten Nanoemulsionen hatte (5).

In dieser Arbeit beobachtete man bei den Messungen der pH-Werte für alle Formulierungen mit Ginseng im Gegensatz zu den Formulierungen ohne Ginseng niedrigere, also hautfreundlichere, Werte. Auffällig war jedoch, dass alle

Formulierungen (mit und ohne Ginseng) kontinuierlich eine Abnahme in ihren pH-Werten über den Lagerzeitraum von 12 Wochen zeigten.

Im Gegensatz dazu stieg der pH-Wert der Formulierung mit Ginseng in der Arbeit von Frau Mag. Dekić nach Woche 2 an (5).

Es ist aber anzumerken, dass weder in der Stabilitätsstudie von Frau Mag. Dekić noch in dieser Arbeit zusätzlich zum Wirkstoff ein Antioxidans verwendet wurde. Für zukünftige Stabilitätsstudien sollte man die Verwendung eines zusätzlichen Antioxidans in Betracht ziehen, um oxidativen Umwandlungsprozessen entgegenzuwirken und somit auch aussagekräftigere Ergebnisse zu erhalten.

Bei den Ergebnissen der makroskopischen Untersuchungen zeigten sich vermehrt Veränderungen bei den Proben, die für die rheologischen Messungen verwendet wurden. Das kann damit begründet werden, dass diese Proben einer überdurchschnittlich hohen Kraft ausgesetzt waren, da bei allen rheologischen Messungen (Woche 0, 1, 2, 4, 8, 12) dieselbe Probe verwendet wurde. Denn aus praktischen Gründen wurden mit dem Hochdruckhomogenisator nur 20 g jeder Probe hergestellt, und da man für die Doppelspaltzylinder-Methode ca. 7 ml Probe pro Messung brauchte, hatte man zu wenig Probenmenge zur Verfügung, um bei jeder Messung eine frische Probe zu verwenden. Dennoch wurden weitgehend konstante Werte über die ersten Wochen erhalten, was darauf hinweist, dass die innere Struktur der Nanoemulsionen trotz der Messungen erhalten blieb.

Eine Besonderheit zeigte sich bei den rheologischen Messungen der drei Proben mit Lezithin/Polysorbat 80 (NE B m. G. f. Rh.) in Woche 8. Die Messwerte der Schubspannung und der dynamischen Viskosität waren von einer der drei Proben signifikant erhöht. Das führte dazu, dass die Messkurven von Woche 8 in den Diagrammen steiler waren und insgesamt höhere Werte annahmen als die Messkurven von Woche 12. Anhand der makroskopischen Untersuchungen sah man, dass diese Probe in Woche 8 eine Schaumbildung zeigte. In Woche 12 beobachtete man bei der gleichen Probe Anzeichen für ein beginnendes Caking. Interessanterweise waren jedoch die Messwerte in Woche 12 wieder in einem plausibleren Rahmen. Mit höchster Wahrscheinlichkeit hat es sich bei der einen Probe um einen Ausreißer gehandelt, dem man nicht zu viel Aufmerksamkeit schenken sollte.

Die Lagerbedingungen sollten wie bereits oben erwähnt, gegebenenfalls überdacht werden, um bei nachfolgenden Experimenten aussagekräftigere Ergebnisse zu erhalten.

Bei den Permeationsversuchen mit Franz-Zellen, die in dieser Arbeit durchgeführt wurden, war auffällig, dass besonders die Formulierung mit Lezithin/Polysorbat 80 (NE B m. G.) stark schäumte. Die Formulierung mit Lezithin/Lysolezithin (NE A m. G.) schäumte nur ein bisschen und die wässrige Kontrolllösung mit Ginseng schäumte so gut wie gar nicht. Im Rahmen einer parallelen Forschung wurden ebenfalls Permeationsversuche mit Franz-Diffusionszellen durchgeführt (60). Als Vehikel wurden Hydrogele verwendet, die denselben Ginseng-Trockenextrakt beinhalten. Bei den Permeationsversuchen mit den Hydrogelen konnte keinerlei Schaum beobachtet werden (60).

Deshalb liegt die Vermutung nahe, dass die Schaumbildung in dieser Arbeit primär auf die Inhaltsstoffe der Nanoemulsionen mit Lezithin/Lysolezithin (NE A m. G.) und Lezithin/Polysorbat 80 (NE B m. G.) zurückzuführen ist bzw. die enthaltenen grenzflächenaktiven Ginsenoside mit den Inhaltsstoffen dieser Nanoemulsionen wechselwirken könnten. Des Weiteren beobachtete man bei diesen Permeationsversuchen, dass es sich bei den Franz-Zellen, die, während dem Versuch undicht wurden, gehäuft um Zellen handelte, die die Formulierung mit Lezithin/Polysorbat 80 (NE B m. G.) enthielten. Es wurde deshalb die Vermutung aufgestellt, dass das Polysorbat 80 am stärksten mit der Schweinehaut interagiert und die Haut in weiterer Folge eventuell durch diese Substanz beschädigt wurde. Schon im Jahr 1997 untersuchten Forscher*innen den Emulgator Polysorbat 80 und entdeckten, dass dieser ein allergenes Potential und folglich eine Neigung zu Hautirritationen aufweist (61).

Da es sich bei Polysorbat 80 chemisch gesehen um eine ethoxylierte Verbindung handelt, weist diese Substanz zudem ein hohes Risiko für Oxidation auf. Deshalb ist es sehr wichtig, dass man die Lagerbedingungen für Formulierungen, die Polysorbat 80 beinhalten, beachtet (61, 62).

Ein weiterer Aspekt von Polysorbat 80 ist, dass durch die hohe Oxidationsneigung andere Stoffe auch zu einer Oxidation tendieren können, wie eine Forschungsarbeit im Jahr 2009 bezüglich des Wirkstoffs Valsartan herausfand (63).

Somit ergaben sich für die Formulierung Lezithin/Polysorbat 80 (NE B m. G.) einige Gefahrenquellen. In dieser Arbeit wurden alle Formulierungen bei Raumtemperatur (ca. 23-25°C) und unter Lichtschutz gelagert, wie aber bereits erwähnt wurde kein zusätzliches Antioxidans in die Nanoemulsionen eingearbeitet. Die Probengefäße wurden immer wieder aufgemacht, da man für alle Messungen frische Probe entnahm bzw. bei der pH-Messung die Sonde in die Probe eintauchte und somit war die Probe über eine längere Zeit der Luft ausgesetzt. Man sollte in nachfolgenden Forschungen bei Verwendung von Polysorbat 80 unbedingt ein Antioxidans der Rezeptur zufügen.

Die Versuche mit den Franz-Diffusionszellen erfolgten 12-13 Wochen nach Herstellung der Nanoemulsionen. Aufgrund dieser langen Zeitspanne sind Veränderungen des Emulgators bzw. der Inhaltsstoffe des Ginseng-Trockenextrakts nicht auszuschließen. Da jedoch weitgehend eine gute chemische Stabilität von Rg1 über 12 Wochen unverändert für NE B nachgewiesen wurde, ist dieser Ansatz vermutlich valide. Interessanterweise wurde bei den Permeationsversuchen ein Molekül gefunden, das höchstwahrscheinlich ein weiteres Ginsenosid ist.

Im Vergleich zu den Permeationsergebnissen der Forschung von Frau Mag. Dekić konnte in dieser Forschung Rb1 nicht durch die intakte Haut permeieren (5). Das lässt sich durch die Unterschiede der verwendeten Haut erklären. Frau Mag. Dekić verwendete porcine Bauchhaut, die kein Stratum corneum mehr besaß, da die Haut beim Schlachter mit Hitze sowie mechanisch vorbehandelt wurde (5).

Deshalb konnten die Ginsenoside in ihrer Forschung um einiges besser durch die Haut permeieren.

Ginsenosid Rb1 war aufgrund seiner höheren Hydrophilie in dieser Arbeit nicht membrangängig, da intakte Haut mit vollständigem Stratum corneum eine starke Barriere für hydrophile Stoffe darstellt.

Bei der bereits erwähnten parallelen Forschung mit Hydrogelen zeigte sich bei den Permeationsversuchen im Vergleich zu den Nanoemulsionen dieser Forschung eine kontinuierlich höhere Konzentration des Ginsenosids Rg1 ab Stunde 8 (60). Rg1

konnte somit besser durch die Haut permeieren, wenn Hydrogele als Vehikel verwendet wurden. Somit wurde die Hypothese bestätigt, dass wässrige Formulierungen in Bezug auf die Wirkstofffreisetzung als Vehikel vorteilhaft sind. Neben dem höheren Wasseranteil sollte aber auch berücksichtigt werden, dass die Hydrogele zusätzlich Ethanol in ihrer Formulierung enthielten und Ethanol bekanntlich als Penetrationsförderer eingesetzt wird. Somit hat das Ethanol wahrscheinlich auch zur Förderung der Permeation beigetragen. Rb1 konnte jedoch auch bei den Versuchen mit Hydrogelen nicht nachgewiesen werden, somit erhärtet sich der Verdacht, dass Rb1 nicht durch das intakte Stratum corneum passieren kann. Ebenso auffällig war die Tatsache, dass der Kurvenverlauf für die wässrigen Kontrolllösungen in beiden Arbeiten (Hydrogelen und Nanoemulsionen) auf eine Art Sättigung des Akzeptors hinwies. Das würde bedeuten, dass Rg1 aus der wässrigen Lösung im Vergleich zu den hergestellten Formulierungen viel stärker freigesetzt wurde (60).

Bei den Permeationsversuchen von Frau Mag. Dekić wurde Rg1 hingegen gleich gut aus den hergestellten Nanoemulsionen wie aus der wässrigen Kontrolllösung freigesetzt (5).

Es müssten deshalb weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um zu klären, weshalb die wässrige Kontrolllösung in dieser Arbeit mit intakter Haut im Vergleich zu den Nanoemulsionen eine so gute Freisetzung des Ginsenosids Rg1 zeigte.

Bei den Stabilitätsuntersuchen der Nanoemulsionen hinsichtlich ihres Wirkstoffgehalts zeigte die Analyse, dass die Nanoemulsion mit Lezithin/Lysolezithin (NE A m. G.) als Emulgator eine signifikante Abnahme des Ginsenosid Rg1-Gehalts über den Lagerzeitraum von 12 Wochen erfuhr. Im Vergleich dazu war die Nanoemulsion mit Lezithin/Polysorbat 80 (NE B m. G.) hinsichtlich ihres Wirkstoffgehalts über den gesamten Lagerzeitraum stabil. Auch die Hydrogele, die in der parallelen Forschung untersucht wurden, erfuhren keine signifikante Änderung in ihrem Ginsenosid Rg1-Gehalt und konnten deshalb ebenfalls über den Lagerzeitraum von 12 Wochen als stabil klassifiziert werden (60).

Es wären weitere Forschungen notwendig, um die Ursache des Abfalls des Wirkstoffgehalts in der Nanoemulsion mit Lezithin/Lysolezithin (NE A m. G.) zu

untersuchen. Zwei mögliche Begründungen wären zum Beispiel, dass das Ginsenosid Rg1 in NE A m. G. im Allgemeinen weniger stabil war, oder die Formulierung eine schlechtere Homogenität aufwies und infolgedessen die gezogenen Proben bei der Gehaltsanalyse schlechter abschnitten als im Vergleich zur Nanoemulsion mit Lezithin/Polysorbat 80 (NE B m. G.).

7. Zusammenfassung und Conclusio

Im ersten Teil dieser Masterarbeit wurden verschiedene Formulierungen von Nanoemulsionen hergestellt. Es wurden dafür unterschiedliche Kombinationen von Tensiden eingesetzt, wobei das Basistensid immer eine Lezithin-Mischung war. Um die physikalisch-chemischen Eigenschaften der jeweiligen Formulierung besser miteinander vergleichen zu können, erfolgte die Herstellung der Formulierungen jeweils mit und ohne Ginseng-Trockenextrakt. Schon bei der Herstellung zeigten sich Unterschiede. Die Formulierungen mit Zuckerestern waren am schwierigsten in der Handhabung, da sie ein ausgeprägtes temperaturabhängiges Gelierverhalten zeigten und ihre Fließeigenschaften während des Herstellungsprozesses somit schwer kontrollierbar waren.

Auch bei der Charakterisierung der Nanoemulsionen, die im zweiten Teil der Arbeit durchgeführt wurde, registrierte man bei den Formulierungen mit Zuckerestern schon von Beginn an Abweichungen. Schlussendlich zeigten die Ergebnisse, abgesehen von den Gehaltsbestimmungen, dass bei den Formulierungen, die den Ginseng-Trockenextrakt beinhalten, die Formulierungen mit Lezithin/Lysolezithin (NE A m. G.) und Lezithin/Polysorbat 80 (NE B m. G.) über 12 Wochen stabil waren. In Gehaltsstudien registrierte man jedoch, dass nur die Formulierung mit Lezithin/Polysorbat 80 (NE B m. G.) über 12 Wochen stabil war. Bei der Formulierung mit Lezithin/Lysolezithin (NE A m. G.) zeigte sich anhand des Ginsenosids Rg1 ein signifikanter Abfall des Wirkstoffgehalts über den Lagerzeitraum von 12 Wochen. Es muss in weiteren Studien geklärt werden, inwieweit dies mit der chemischen Stabilität der Tensidmischung zusammenhängt bzw. mit Inhomogenität während der Probennahme korreliert sein könnte. Zusammenfassend zeigte die Nanoemulsion mit Lezithin/Polysorbat 80 (NE B m. G.) die vielversprechendsten Eigenschaften.

Im dritten und letzten Teil der Arbeit führte man Permeationsstudien mithilfe von Franz-Diffusionszellen durch. Für diese Studien wurden die extrakthaltigen Formulierungen mit Lezithin/Lysolezithin (NE A m. G.) und Lezithin/Polysorbat 80 (NE B m. G.) auf die Haut von Schweineohren aufgetragen. Bei diesen Versuchen zeigte sich, dass das hydrophile Ginsenosid Rb1 nicht durch das intakte Stratum corneum der Schweinehaut permeieren konnte. Das lipophilere Ginsenosid Rg1 konnte hingegen im Akzeptormedium nachgewiesen werden. Die Ergebnisse zeigten zudem, dass das Ginsenosid Rg1 aus einer wässrigen Kontrolllösung mitunter besser freigesetzt wurde als aus den beiden Nanoemulsionen.

Dies ist im vorliegenden infinite-dose Versuchsaufbau vermutlich auf eine höhere Löslichkeit von Rg1 in den O/W-Nanoemulsionen zurückzuführen, welche eine Art Retardierungseffekt im Vergleich zur rein wässrigen Lösung hervorrufen könnte. Weshalb jedoch die wässrige Lösung zu einer teilweise explosionsartigen Freisetzung von Rg1 führte, sodass bei vielen Proben eine Sättigung des Akzeptormediums beobachtet wurde, wird Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Nach Abklärung dieser technologischen Fragestellungen sollten in vitro-Versuche mittels Zellkultur folgen, um den antioxidativen Effekt der entwickelten Vehikel zu ermitteln. Schlussendlich könnten in vivo-Anwendungsstudien zeigen, inwieweit ein klinisch relevanter antioxidativer Effekt nachweisbar ist.

8. Abstract

Panax Ginseng hat aufgrund der antioxidativen Wirkung seiner Hauptinhaltsstoffe, der Ginsenoside, ein großes Potential in kosmetischen Anti Aging-Produkten. Jedoch ist die dermale Anwendung von Ginseng-Extrakt im europäischen Raum wenig erforscht. Das Ziel dieser Masterarbeit war es daher, eine stabile Formulierung für Panax Ginseng-Trockenextrakt zu entwickeln. Verschiedene lezithin-basierte Nanoemulsionen sollten mittels Co-Tensiden (Monoacylphosphatidylcholin, Saccharoseester, Polysorbat 80) optimiert werden, um Extrakt-haltige Formulierungen mit guter Lagerstabilität herzustellen. Zu diesem Zweck wurden Nanoemulsionen mit und ohne Extrakt mittels Hochdruckhomogenisation hergestellt, charakterisiert und über 12 Wochen analysiert. Für die Charakterisierung und Stabilitätskontrolle wurden Partikelgröße, Zetapotential und PDI gemessen. pH-Messungen, rheologische Messungen und Gehaltsbestimmung mittels UHPLC-MS kamen ebenfalls zum Einsatz. Im Anschluss an die Stabilitätsuntersuchungen wurden Permeationsstudien mithilfe von Franz-Diffusionszellen an Schweineohrenhaut durchgeführt.

Es zeigte sich, dass Ginsengextrakt zur Destabilisierung von Nanoemulsionen auf Basis von Lezithin/Saccharoseester führte. Im Gegensatz dazu wiesen die Nanoemulsionen mit Lezithin/Lysolezithin bzw. Lezithin/Polysorbat 80 eine zufriedenstellende Lagerstabilität auf, wobei besonders gegen Ende des Messzeitraums Änderungen der Viskosität, des pH-Werts und des Ginsenosid Rg1-Gehalts der Lezithin/Lysolezithin-Nanoemulsion zu verzeichnen waren.

Die Permeationsversuche zeigten, dass nur Ginsenosid Rg1, nicht aber Ginsenosid Rb1 durch das intakte Stratum corneum der Schweinehaut passieren konnte. Die beiden Vehikel unterschieden sich in ihrer Hautpermeation geringfügig; zudem erzielte eine wässrige Vergleichslösung mitunter höhere Permeationsraten. Dies könnte im ex vivo-Experiment auf eine bessere Löslichkeit des lipophilen Rg1 in den Nanoemulsionen und einen damit verbundenen Retardierungseffekt zurückzuführen sein.

Panax ginseng extract has great potential for topical use due to the antioxidant effect of its main ingredients, the ginsenosides. Therefore, ginseng is of particular interest in cosmetic anti-aging products. However, little scientific data within the European research community on this topic exists.

Thus, the aim of this master thesis was to incorporate Panax ginseng dry extract into lecithin-based nanoemulsions stabilized with different co-surfactants (monoacylphosphatidylcholine, sucrose ester, polysorbate 80). To this end, nanoemulsions with and without ginseng dry extract were produced using high-pressure homogenization. The nanoemulsions were characterized based on their chemical and physical properties and the stability was examined over a storage period of 12 weeks. For characterization and stability control particle size, zeta potential and PDI were measured. Also, pH-measurements, rheological measurements and determination of Rg1 content using UHPLC-MS were performed. Permeation studies were performed using Franz diffusion cells with porcine ear skin.

The results showed that nanoemulsions with lecithin/sucrose ester were not able to accommodate the plant extract successfully. In contrast, nanoemulsions with lecithin/monoacylphosphatidylcholine and lecithin/polysorbate 80 exhibited satisfying storage stability over 12 weeks. Changes in pH, Rg1 content and viscosity especially at the end of storage time were nonetheless visible, which was more pronounced for the lecithin/monoacylphosphatidylcholine nanoemulsion.

Permeation studies revealed that ginsenoside Rg1, but not Rb1 could pass through the intact stratum corneum of pig skin. The nanoemulsions exhibited differences in their permeation behavior and interestingly, higher release rates of Rg1 were observed from aqueous control solutions, which might be due to the experimental setup and/or a retardation effect due to higher solubility of Rg1 in the nanoemulsion vehicles.

9. Literaturverzeichnis

- (1.) Bäuml, S., Heilpflanzen Praxis Heute, 1st edition, Urban & Fischer, (2007), ISBN: 978-3-437-57271-5
- (2.) Leutnant, N., Ginseng, Taigawurzel, Rosenwurz, 1st edition, AT Verlag, (2018), ISBN: 978-3-03800-811-8
- (3.) Kim, E., Kim, D., Yoo, S., Hong, Y. H., Han, S. Y., Jeong, S., Jeong, D., Kim, J.-H., Cho, J. Y., Park, J., The skin protective effects of compound K, a metabolite of ginsenoside Rb1 from Panax ginseng, Journal of Ginseng Research, (2018), Vol. 42 (2): 218-24, doi: 10.1016/j.jgr.2017.03.007
- (4.) He, N., Zhao, S., He, Y., Xu, M., Meng, H., Yi, F., Current Status of Research on Ginseng Cosmetics, Asian Journal of Beauty and Cosmetology, (2018), Vol. 16 (4): 609-16, doi: 10.20402/ajbc.2018.0249
- (5.) Dekić, Z., Entwicklung einer hautfreundlichen Formulierung mit Panax-Ginseng-Extrakt, Masterarbeit, Universität Wien, Wien, (2021)
- (6.) Klang, V., Valenta, C., Lecithin-based nanoemulsions, Journal of Drug Delivery Science and Technology, (2011), Vol. 21 (1): 55-76, doi: 10.1016/S1773-2247(11)50006-1
- (7.) Bauer, K. H., Frömming, K.-H., Führer, C., Pharmazeutische Technologie, 9th edition, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, (2012), ISBN: 978-3-8047-2552-2
- (8.) Neubert, R., Wohlrab, W. A., Marsch, W., Dermatopharmazie, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, (2001), ISBN: 978-3-8047-1806-7
- (9.) Young, K. A., Wise, J. A., DeSaix, P., Kruse, D. H., Poe, B., Johnson, E., Johnson, J. E., Korol, O., Betts, J. G., Womble, M., Anatomy and Physiology, OpenStax, (2013), ISBN: 978-1-9381-6813-0
- (10.) Voigt, R., Pharmazeutische Technologie, 11th edition, Deutscher Apotheker Verlag, (2010), ISBN: 978-3-7692-5003-9
- (11.) Fahr, A., Voigt Pharmazeutische Technologie, 12th edition, Deutscher Apotheker Verlag, (2015), ISBN: 978-3-7692-6194-3
- (12.) Jacobi, U., Kaiser, M., Toll, R., Mangelsdorf, S., Audring, H., Otberg, N., Sterry, W., Lademann, J., Porcine ear skin: an in vitro model for human skin, Skin Research and Technology, (2007), Vol. 13 (1): 19-24, doi: 10.1111/j.1600-0846.2006.00179.x
- (13.) McClements, D. J., Nanoemulsions versus microemulsions, Soft Matter, (2012), Vol. 8 (6): 1719-29, doi: 10.1039/c2sm06903b
- (14.) Verma, D. D., Verma, S., Blume, G., Fahr, A., Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin, International journal of pharmaceutics, (2003), Vol. 258 (1): 141-51, doi: 10.1016/S0378-5173(03)00183-2
- (15.) Hou, J. P., The Healing Power of Ginseng, 1st edition, CRC Press, (2019), ISBN: 978-0-4294-8911-2

- (16.) Jin, Y., Kim, Y.-J., Jeon, J.-N., Wang, C., Min, J.-W., Noh, H.-Y. Yang, D.-C., Effect of White, Red and Black Ginseng on Physicochemical Properties and Ginsenosides, *Plant foods for human nutrition*, (2015), Vol. 70 (2): 141-5, doi: 10.1007/s11130-015-0470-0
- (17.) Schönfelder, I., Schönfelder, P., *Das neue Handbuch der Heilpflanzen*, Franckh-Kosmos Verlags-GmbH, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, (2004), ISBN: 3-8047-2134-6
- (18.) Christensen, L. P., Ginsenosides chemistry, biosynthesis, analysis, and potential health effects, *Advances in Food and Nutrition Research*, (2009), Vol. 55: 1-99, doi: 10.1016/S1043-4526(08)00401-4
- (19.) Mohanan, P., Subramaniyam, S., Mathiyalagan, R., Yang, D.-C., Molecular signaling of ginsenosides Rb1, Rg1, and Rg3 and their mode of actions, *Journal of Ginseng Research*, (2018), Vol. 42 (2): 123-32, doi: 10.1016/j.jgr.2017.01.008
- (20.) Shi, Z.-Y., Zeng, J.-Z., Wong, A. S. T., Chemical Structures and Pharmacological Profiles of Ginseng Saponins, *Molecules*, (2019), Vol. 24 (13): 2243, doi: 10.3390/molecules24132443
- (21.) Yanze, L., Wang, Z., Zhang, J., *Dietary Chinese Herbs*, Springer Verlag, (2015), ISBN: 978-3-2119-9447-4
- (22.) Bai, L., Gao, J., Wei, F., Zhao, J., Wang, D., Wei, J., Therapeutic Potential of Ginsenosides as an Adjuvant Treatment for Diabetes, *Frontiers in Pharmacology*, (2018), Vol. 9: 423, doi: 10.3389/fphar.2018.00423
- (23.) Zhang, Q. H., Wu, C. F., Duan, L., Yang, J. Y., Protective effects of total saponins from stem and leaf of *Panax ginseng* against cyclophosphamide-induced genotoxicity and apoptosis in mouse bone marrow cells and peripheral lymphocyte cells, *Food and Chemical Toxicology*, (2008), Vol. 46 (1): 293–302, doi: 10.1016/j.fct.2007.08.025
- (24.) Haffner, F., Schultz, O.-E., Schmid, W., Braun, R., *Normdosen gebräuchlicher Arzneistoffe und Drogen*, 25th edition, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, (2020), ISBN: 978-3-8047-4127-0
- (25.) Williamson, E., Driver, S., Baxter, K., *Stockley's Herbal Medicines Interactions*, 2nd edition, Pharmaceutical Press, (2013), ISBN: 978-0-8571-1026-8
- (26.) Hermann, R., Von Richter, O., *Ginseng-Interaktionen*, *Deutsche Apotheker Zeitschrift*, (2013), Vol. 36: 58,
- (27.) *Arzneibuchkommission, Europäisches Arzneibuch*, 10th edition, Verlag Österreich (2020), ISBN: 978-3-7046-8504-9
- (28.) *Arzneibuchkommission, Europäisches Arzneibuch*, 10th edition, Verlag Österreich (2020), ISBN: 978-3-7046-8504-9
- (29.) Ahmad, J., Nollet, L., *Nanoemulsions in food technology*, 1st edition, CRC Press, (2021), ISBN: 978-1-003-12112-1

- (30.) Raab, W., Kindl, U., Pflegekosmetik, 4th edition, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, (2004), ISBN: 3-8047-2008-0
- (31.) Ahmed, K., Li, Y., McClements, D. J., Xiao, H., Nanoemulsion- and emulsion-based delivery systems for curcumin: Encapsulation and release properties, Food chemistry, (2012), Vol. 132 (2): 799-807, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.11.039
- (32.) Ammon, H. P. T., Hunnius Pharmazeutisches Wörterbuch, 10th edition, De Gruyter, (2010), ISBN: 978-3-11-020631-9
- (33.) Mäder, K., Weidenauer, U., Innovative Arzneiformen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, (2010), ISBN: 978-3-8047-2455-6
- (34.) Acevedo-Estupiñan, M. V., Gutierrez-Lopez, G. F., Cano-Sarmiento, C., Parra-Escudero, C. O., Rodriguez-Estrada, M. T., Garcia-Varela, R., García, H. S., Stability and characterization of O/W free phytosterols nanoemulsions formulated with an enzymatically modified emulsifier, Food science & technology, (2019), Vol. 107: 151-7, doi: 10.1016/j.lwt.2019.03.004
- (35.) Trotta, M., Pattarino, F., Ignoni, T., Stability of drug-carrier emulsions containing phosphatidylcholine mixtures, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, (2002), Vol. 53 (2): 203-8, doi: 10.1016/S0939-6411(01)00230-2
- (36.) Wikipedia, Polysorbate, abgerufen am: 27.06.2022, <https://de.wikipedia.org/wiki/Polysorbate>
- (37.) Gattefossé, Surfhope Sugar Esters, abgerufen am: 23.03.2022, <https://www.pharmacompass.com/pAssets/pdf/edqm/application/JRS-Pharma-LLP-edqm-application-1457952389.pdf>
- (38.) Schultz, S., Wagner, G., Ulrich, J., Hochdruckhomogenisation als ein Verfahren zur Emulsionsherstellung, Chemie Ingenieur Technik, (2002), Vol. 74 (7): 901-9, doi: 10.1002/1522-2640(200207)74:7<901::AID-CITE901>3.0.CO;2-7
- (39.) Freudig, B., Tesch, S., Schubert, H., Herstellen von Emulsionen in Hochdruckhomogenisatoren - Teil 2: Bedeutung der Kavitation für die Tropfenzerkleinerung, Chemie Ingenieur Technik, (2002), Vol. 74 (6): 880-4, doi: 10.1002/1522-2640(200206)74:6<880::AID-CITE880>3.0.CO;2-O
- (40.) Avestin, Emulsiflex C3, abgerufen am: 14.02.2022, <http://www.avestin.com/emulsiflex-c3.htm>
- (41.) Mendoza, F., Lu, R., Dynamic light scattering for measuring microstructure and rheological properties of food, in: Light Scattering Technology for Food Property, Quality and Safety Assessment, 1st edition, 331-60, Eds. Lu R, CRC Press, (2016), ISBN: 978-1-3153-7207-5

- (42.) Palazzo, G., Berti, D., Diffusion and Aggregation, in: Colloidal Foundations of Nanoscience, 1st edition, 199-231, Eds. Berti D, Palazzo, G., Elsevier, (2014), ISBN: 978-0-4445-9541-6
- (43.) Panalytical M, DLS Malvern, abgerufen am: 04.02.2022, <https://www.malvernpanalytical.com/es/learn/knowledge-center/whitepapers/WP111214DLSTermsDefined>
- (44.) Clarke, S., Development of hierarchical magnetic nanocomposite materials for biomedical applications, Dissertation, Dublin City University, Dublin, (2013)
- (45.) Nitzsche, R., Simon, F., Bestimmung des Zetapotentials aus Messungen der elektrophoretischen Mobilität, Technisches Messen, (1997), Vol. 64 (3): 106-13, doi: 10.1524/teme.1997.64.jg.106
- (46.) Bhattacharjee, S., DLS and zeta potential – What they are and what they are not?, Journal of controlled release, (2016), Vol. 235: 337-51, doi: 10.1016/j.jconrel.2016.06.017
- (47.) Müller, R., Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, (1996), ISBN: 3-8047-1465-X
- (48.) Gref, R., Couvreur, P., Nanocapsules: Preparation, characterization and therapeutic applications, in: Nanoparticulates As Drug Carriers, 1st edition, 255-76, Eds. Torchilin VP, Imperial College Press, (2006), ISBN: 978-1-86094-630-1
- (49.) Xu, R., Wu, C., Xu, H., Particle size and zeta potential of carbon black in liquid media, Carbon, (2007), Vol. 45 (14): 2806-9, doi: 10.1016/j.carbon.2007.09.010
- (50.) Arzneibuchkommission, Europäisches Arzneibuch, 10th edition, Verlag Österreich (2020), ISBN: 978-3-7046-8504-9
- (51.) Mezger, T. G., Das Rheologie Handbuch, 3rd edition, (2010), ISBN: 978-3-8663-0863-3
- (52.) Schramm, G., Einführung in Rheologie und Rheometrie, Gebrüder HAAKE GmbH, (1995),
- (53.) Anton-Paar, Rotationsmessungen, abgerufen am: 08.03.2022, <https://www.anton-paar.com/corp-de/service-support/dokumente/applikationsberichte/joe-flow-06-rotationsmessungen/>
- (54.) Tatar, B. C., Sumnu, G., Sahin, S., Rheology of Emulsions, in: Advances in food rheology and its applications, 1st edition, 437-57, Eds. Ahmed J, Ptaszek, P., Basu, S., Woodhead Publishing, (2017), ISBN: 978-0-08-100432-6
- (55.) Garg, A., Singh, S., Transdermal Drug Delivery Systems, in: In-Vitro and In-Vivo Tools in Drug Delivery Research for Optimum Clinical Outcomes, 1st edition, 51-77, Eds. Ambikanandan M, Aliasgar, S., CRC Press, (2018), ISBN: 978-1-3151-5004-8
- (56.) Langner, A., Borchert, H.-H., Mehnert, W., Biopharmazie, 4th edition, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, (2011), ISBN: 978-3-8047-2554-6

- (57.) Göber, B., Surmann, P., Arzneimittelkontrolle Drug Control, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, (2005), ISBN: 3-8047-2078-1
- (58.) Brown, T. L., Le May, H. E., Bursten, B. E., Chemie Studieren kompakt, 10th edition, Pearson Deutschland GmbH, (2011), ISBN: 978-3-86894-122-7
- (59.) Schirmeister, T., Schmuck, C., Wich, P. R., Organische Chemie, 25th edition, Hirzel Verlag, (2016), ISBN: 978-3-7776-1673-5
- (60.) Walter, V., Dermale Formulierungen mit Panax Ginseng-Extrakt: Vergleich von unterschiedlich formulierten Hydrogelen in Hinblick auf physikalisch-chemische Eigenschaften und Hautpenetration und Vorversuche zur Hautpenetration mittels konfokaler Raman-Spektroskopie, Masterarbeit, Universität Wien, Wien, (2023)
- (61.) Bergh, M., Magnusson, K., Nilsson, J. L. G., Karlberg, A.-T., Contact allergenic activity of Tween® 80 before and after air exposure
Contact dermatitis, (1997), Vol. 37 (1): 9-18, doi: 10.1111/j.1600-0536.1997.tb00368.x
- (62.) Bergh, M., Shao, L. P., Hagelthorn, G., Gäfvert, E., Nilsson, J. L. G., Karlberg, A.-T., Contact Allergens from Surfactants. Atmospheric Oxidation of Polyoxyethylene Alcohols, Formation of Ethoxylated Aldehydes, and Their Allergenic Activity, Journal of pharmaceutical sciences, (1998), Vol. 87 (3): 276-82, doi: 10.1021/js9704036
- (63.) Choi, H.-G., Sung, J.-H., Oh, D.-H., Li, D.-X., Cho, K.-H., Woo, J.-S., Yong, C.-S., Physicochemical property and skin damage of physical mixture of valsartan and polysorbate 80, Journal of Pharmaceutical Investigation, (2009), Vol. 39 (2): 107-10, doi: 10.4333/KPS.2009.39.2.107

10. Anhang

Zetasizer® Messungen

blau – mit Aqua destillata vermessen

rot – mit NaCl-Lösung vermessen

NE A o. G.:

NE A o. G. (1) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	138,30	0,109	-54,70	0,019			6,77
	138,70	0,115	-50,80	0,019			6,69
	138,30	0,103	-51,70	0,019			6,69

NE A o. G. (2) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	133,80	0,090	-51,40	0,019			6,71
	133,00	0,096	-52,30	0,022			6,69
	130,90	0,149	-52,90	0,032			6,67

NE A o. G. (3) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	143,90	0,105	-46,80	0,0313			6,68
	140,40	0,118	-46,00	0,0209			6,68
	142,10	0,109	-45,90	0,021			6,72

NE A o. G. (1) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	142,50	0,106	-53,60	0,019	-48,40	0,019	6,25
	140,20	0,122	-48,90	0,019	-53,40	0,019	6,22
	140,20	0,083	-49,60	0,019	-51,60	0,019	6,23

NE A o. G. (2) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	139,60	0,123	-50,80	0,020	-43,40	0,020	6,38
	138,20	0,123	-55,60	0,020	-41,80	0,020	6,42
	138,00	0,143	-57,00	0,020	-46,00	0,021	6,44

NE A o. G. (3) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	144,70	0,148	-55,00	0,015	-51,40	0,022	6,39
	144,60	0,115	-49,50	0,018	-52,90	0,031	6,40
	144,40	0,097	-51,50	0,029	-52,00	0,016	6,40

NE A o. G. (1) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	140,30	0,074	-52,80	0,015			5,77
	140,10	0,127	-53,50	0,016			5,78
	139,10	0,120	-52,10	0,018			5,76

NE A o. G. (2) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	138,70	0,139	-46,80	0,028			6,34
	137,70	0,134	-46,30	0,011			6,37
	136,90	0,111	-48,00	0,011			6,37

NE A o. G. (3) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	145,30	0,101	-50,30	0,015			6,11
	140,90	0,098	-48,10	0,015			6,11
	143,60	0,102	-49,00	0,016			6,11

NE A o. G. (1) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	142,30	0,101	-39,10	0,016	-48,40	0,019	5,51
	140,10	0,123	-52,20	0,016	-53,40	0,019	5,47
	140,00	0,117	-46,70	0,017	-51,60	0,019	5,45

NE A o. G. (2) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	139,80	0,123	-57,20	0,019	-56,70	0,014	6,22
	138,70	0,110	-58,10	0,027	-51,80	0,016	6,24
	136,80	0,139	-46,30	0,025	-59,00	0,020	6,23

NE A o. G. (3) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	147,10	0,115	-48,00	0,015	-47,70	0,025	5,73
	145,20	0,143	-50,10	0,015	-49,00	0,032	5,74
	145,00	0,079	-50,60	0,015	-47,90	0,016	5,72

NE A o. G. (1) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	140,10	0,107	-52,00	0,017			5,37
	138,90	0,095	-52,00	0,017			5,36
	139,90	0,133	-48,70	0,017			5,35

NE A o. G. (2) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	141,30	0,127	-50,60	0,012			6,03
	137,00	0,107	-50,10	0,012			6,07
	137,40	0,088	-49,30	0,013			6,05

NE A o. G. (3) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	143,60	0,107	-52,90	0,016			5,56
	143,40	0,080	-49,70	0,016			5,58
	141,70	0,121	-50,70	0,018			5,58

NE A o. G. (1) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	139,10	0,079	-46,70	0,018	-41,20	0,020	5,48
	138,40	0,098	-43,40	0,019	-43,70	0,020	5,48
	138,50	0,117	-43,90	0,027	-43,50	0,020	5,49

NE A o. G. (2) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	136,20	0,118	-46,80	0,014	-53,00	0,014	6,04
	135,30	0,114	-48,40	0,014	-53,50	0,014	6,06
	134,70	0,113	-48,00	0,014	-52,80	0,014	6,08

NE A o. G. (3) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	145,00	0,115	-54,50	0,026	-49,20	0,019	5,62
	144,20	0,106	-53,40	0,026	-53,50	0,019	5,61
	143,70	0,100	-51,60	0,016	-50,30	0,019	5,61

NE A o. G. (1) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	146,70	0,082	-48,80	0,031			5,57
	143,50	0,102	-52,00	0,019			5,56
	143,20	0,085	-62,30	0,019			5,56

NE A o. G. (2) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	137,50	0,113	-53,30	0,015			5,95
	138,20	0,077	-54,60	0,015			5,99
	137,30	0,117	-51,90	0,015			5,99

NE A o. G. (3) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	144,90	0,099	-50,00	0,018			5,56
	144,10	0,087	-49,70	0,018			5,58
	142,90	0,108	-51,60	0,020			5,57

NE A o. G. (1) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	157,40	0,065	-53,70	0,019	-48,50	0,020	5,63
	156,30	0,075	-55,70	0,019	-50,40	0,020	5,62
	155,40	0,055	-55,80	0,019	-52,50	0,020	5,62

NE A o. G. (2) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	139,90	0,090	-51,70	0,015	-56,30	0,015	5,89
	137,90	0,117	-48,20	0,017	-55,80	0,015	5,91
	137,40	0,128	-49,30	0,026	-56,30	0,015	5,91

NE A o. G. (3) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	146,30	0,105	-50,70	0,018	-53,10	0,025	5,55
	143,50	0,129	-49,80	0,019	-51,90	0,033	5,55
	144,30	0,069	-49,70	0,021	-49,50	0,028	5,55

NE B o. G.:

NE B o. G. (1) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	95,58	0,117	-54,90	0,021			6,70
	94,96	0,104	-58,00	0,022			6,68
	95,02	0,087	-52,20	0,024			6,68

NE B o. G. (2) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	104,20	0,062	-51,50	0,015			6,68
	102,20	0,090	-56,90	0,013			6,70
	101,80	0,095	-57,20	0,013			6,68

NE B o. G. (3) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	103,50	0,091	-55,30	0,011			6,72
	103,60	0,109	-63,60	0,011			6,71
	103,80	0,066	-55,50	0,011			6,71

NE B o. G. (1) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	101,00	0,084	-46,80	0,024	-60,50	0,014	6,45
	100,00	0,077	-42,50	0,025	-58,70	0,014	6,42
	100,40	0,072	-44,40	0,013	-58,70	0,016	6,40

NE B o. G. (2) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	103,40	0,119	-68,80	0,012	-52,50	0,024	6,30
	104,10	0,091	-66,30	0,012	-50,90	0,025	6,32
	103,10	0,106	-61,40	0,012	-51,00	0,013	6,31

NE B o. G. (3) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	104,70	0,113	-51,70	0,011	-56,70	0,017	6,35
	103,80	0,080	-51,90	0,012	-53,30	0,026	6,38
	104,40	0,089	-56,70	0,013	-61,50	0,031	6,41

NE B o. G. (1) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	99,03	0,094	-50,40	0,014			6,16
	99,04	0,096	-44,00	0,014			6,17
	97,56	0,080	-41,10	0,014			6,20

NE B o. G. (2) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	99,99	0,104	-48,00	0,032			6,09
	101,40	0,116	-44,90	0,016			6,08
	99,23	0,110	-46,00	0,016			6,06

NE B o. G. (3) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	101,70	0,076	-38,00	0,016			6,21
	99,87	0,063	-42,60	0,016			6,21
	99,35	0,091	-41,90	0,016			6,21

NE B o. G. (1) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	103,70	0,087	-57,10	0,013	-57,60	0,015	5,79
	101,90	0,085	-47,30	0,017	-58,80	0,015	5,78
	101,10	0,081	-55,60	0,024	-52,10	0,015	5,76

NE B o. G. (2) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	105,40	0,115	-55,30	0,014	-49,00	0,016	5,97
	103,70	0,123	-48,50	0,014	-50,20	0,016	5,91
	102,80	0,095	-49,60	0,015	-51,00	0,016	5,94

NE B o. G. (3) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	105,50	0,096	-59,30	0,027	-52,00	0,032	5,95
	104,10	0,082	-54,30	0,015	-53,10	0,017	5,92
	102,80	0,104	-52,20	0,015	-53,80	0,017	5,95

NE B o. G. (1) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	103,30	0,089	-60,30	0,013			5,62
	102,00	0,092	-58,10	0,014			5,65
	101,20	0,103	-57,70	0,017			5,63

NE B o. G. (2) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	102,00	0,074	-55,50	0,018			5,82
	102,30	0,092	-57,80	0,018			5,82
	102,30	0,061	-51,10	0,019			5,81

NE B o. G. (3) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	104,40	0,098	-49,90	0,018			5,80
	104,40	0,069	-49,50	0,018			5,83
	102,50	0,109	-48,00	0,019			5,84

NE B o. G. (1) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	102,10	0,072	-52,90	0,014	-56,40	0,015	5,74
	101,50	0,100	-57,70	0,016	-58,50	0,015	5,73
	101,90	0,065	-65,60	0,022	-56,40	0,016	5,73

NE B o. G. (2) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	104,20	0,082	-51,40	0,030	-42,10	0,032	5,86
	103,50	0,074	-42,10	0,030	-43,10	0,019	5,85
	102,40	0,081	-45,50	0,018	-43,90	0,019	5,84

NE B o. G. (3) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	109,30	0,066	-43,70	0,018	-46,90	0,019	5,86
	107,20	0,056	-42,60	0,018	-47,60	0,019	5,87
	108,20	0,078	-46,60	0,020	-52,80	0,019	5,87

NE B o. G. (1) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	101,90	0,104	-49,20	0,015			5,63
	101,90	0,075	-50,40	0,015			5,61
	100,50	0,119	-53,00	0,015			5,63

NE B o. G. (2) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	126,00	0,057	-48,20	0,019			5,79
	126,50	0,074	-50,70	0,019			5,79
	126,40	0,077	-55,20	0,020			5,79

NE B o. G. (3) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	144,20	0,055	-81,20	0,040			5,75
	140,10	0,059	-70,30	0,040			5,80
	139,60	0,070	-67,20	0,035			5,81

NE B o. G. (1) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	102,90	0,072	-49,50	0,022	-52,20	0,015	5,58
	102,30	0,107	-48,00	0,014	-55,80	0,015	5,59
	101,90	0,072	-47,60	0,015	-65,00	0,016	5,58

NE B o. G. (2) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	141,80	0,060	-43,10	0,026	-45,90	0,020	5,69
	141,00	0,068	-46,60	0,033	-48,30	0,020	5,70
	140,80	0,049	-44,40	0,020	-48,60	0,021	5,71

NE B o. G. (3) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	155,50	0,080	-51,20	0,020	-45,30	0,021	5,71
	154,50	0,042	-48,90	0,019	-46,10	0,021	5,74
	154,00	0,074	-49,60	0,020	-47,20	0,021	5,74

NE C o. G.:

NE C o. G. (1) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	151,10	0,118	-62,80	0,015			6,71
	148,60	0,104	-65,70	0,019			6,69
	146,90	0,110	-63,90	0,030			6,69

NE C o. G. (2) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	150,30	0,093	-53,30	0,023			6,71
	149,80	0,079	-59,60	0,023			6,67
	150,60	0,107	-58,90	0,024			6,66

NE C o. G. (3) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	140,60	0,084	-73,50	0,026			6,64
	139,20	0,104	-93,90	0,027			6,65
	138,10	0,100	-71,50	0,029			6,65

NE C o. G. (1) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	149,90	0,091	-55,50	0,014	-57,80	0,029	6,34
	148,80	0,081	-54,00	0,014	-58,30	0,018	6,33
	147,40	0,111	-53,80	0,015	-57,40	0,016	6,35

NE C o. G. (2) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	154,50	0,151	-65,80	0,013	-60,80	0,015	6,44
	154,10	0,114	-67,10	0,013	-58,60	0,015	6,43
	154,40	0,062	-64,20	0,013	-63,20	0,015	6,42

NE C o. G. (3) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	147,00	0,101	-60,80	0,013	-60,20	0,015	6,37
	144,60	0,111	-55,40	0,013	-58,90	0,018	6,38
	143,40	0,099	-55,10	0,013	-55,80	0,029	6,38

NE C o. G. (1) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	148,40	0,117	-52,40	0,016			6,11
	146,70	0,093	-52,60	0,016			6,11
	145,30	0,081	-53,20	0,016			6,13

NE C o. G. (2) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	153,20	0,107	-55,20	0,021			6,18
	151,00	0,137	-58,00	0,029			6,19
	151,80	0,112	-55,30	0,024			6,18

NE C o. G. (3) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	145,90	0,114	-58,30	0,015			6,17
	145,50	0,111	-57,40	0,018			6,18
	142,30	0,132	-59,90	0,025			6,19

NE C o. G. (1) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	148,50	0,094	-59,50	0,017	-45,80	0,017	6,09
	147,20	0,088	-61,40	0,023	-52,60	0,018	6,05
	148,40	0,111	-61,90	0,031	-54,40	0,018	6,04

NE C o. G. (2) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	155,20	0,089	-53,20	0,016	-57,60	0,027	6,06
	153,30	0,107	-61,10	0,015	-55,10	0,031	6,08
	154,40	0,070	-52,00	0,015	-61,90	0,016	6,08

NE C o. G. (3) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	147,80	0,109	-63,70	0,027	-52,00	0,015	6,03
	146,40	0,071	-60,60	0,028	-52,00	0,015	6,04
	145,10	0,089	-63,20	0,029	-64,80	0,015	6,04

NE C o. G. (1) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	148,60	0,100	-45,70	0,028			6,02
	147,60	0,107	-45,30	0,032			5,98
	147,90	0,079	-50,50	0,018			5,97

NE C o. G. (2) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	158,00	0,069	-54,70	0,014			5,96
	155,00	0,103	-54,80	0,015			5,98
	153,20	0,090	-52,30	0,016			5,98

NE C o. G. (3) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	150,70	0,089	-55,80	0,016			5,94
	148,40	0,073	-58,80	0,025			5,97
	146,50	0,089	-63,30	0,031			5,97

NE C o. G. (1) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	153,80	0,077	-58,40	0,018	-58,20	0,023	6,02
	150,40	0,095	-61,80	0,019	-55,60	0,032	6,01
	149,70	0,079	-59,90	0,022	-58,50	0,019	6,01

NE C o. G. (2) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	156,00	0,107	-49,20	0,032	-58,00	0,019	6,05
	155,20	0,108	-49,40	0,017	-54,90	0,019	6,07
	154,80	0,092	-43,70	0,017	-58,20	0,019	6,07

NE C o. G. (3) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	147,40	0,117	-57,40	0,016	-51,80	0,018	6,00
	145,70	0,082	-54,00	0,016	-54,10	0,025	6,02
	146,30	0,062	-56,90	0,019	-58,80	0,031	6,04

NE C o. G. (1) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	152,40	0,101	-54,80	0,022			5,88
	151,60	0,073	-53,10	0,030			5,88
	150,70	0,101	-53,20	0,033			5,88

NE C o. G. (2) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	154,10	0,097	-50,90	0,019			6,01
	154,00	0,081	-49,70	0,027			6,01
	154,90	0,098	-49,00	0,032			6,01

NE C o. G. (3) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	144,90	0,100	-52,80	0,016			5,97
	144,10	0,100	-56,50	0,016			5,98
	145,10	0,082	-52,70	0,016			5,99

NE C o. G. (1) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	149,30	0,107	-53,60	0,019	-53,40	0,023	5,92
	149,50	0,082	-54,90	0,019	-53,50	0,030	5,91
	149,00	0,097	-56,00	0,020	-52,20	0,023	5,90

NE C o. G. (2) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	156,60	0,091	-50,90	0,032	-51,60	0,022	5,99
	153,20	0,125	-48,50	0,017	-57,60	0,032	6,01
	153,10	0,100	-47,80	0,017	-51,20	0,019	6,02

NE C o. G. (3) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	148,80	0,082	-51,80	0,031	-49,50	0,017	5,96
	146,30	0,096	-52,50	0,016	-51,40	0,017	5,99
	145,60	0,088	-52,90	0,016	-53,60	0,017	6,00

NE A m. G.:

NE A m. G. (1) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	137,70	0,105	-41,00	0,041			5,69
	138,10	0,103	-43,30	0,042			5,68
	135,50	0,122	-41,10	0,045			5,67

NE A m. G. (2) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	129,60	0,130	-46,40	0,040			5,71
	129,40	0,088	-45,00	0,043			5,69
	127,20	0,109	-47,90	0,034			5,68

NE A m. G. (3) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	131,10	0,101	-47,70	0,057			5,70
	130,30	0,101	-47,70	0,062			5,70
	129,40	0,090	-46,10	0,056			5,68

NE A m. G. (1) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	139,10	0,080	-43,10	0,034	-41,60	0,036	5,70
	139,20	0,111	-44,30	0,034	-44,00	0,037	5,69
	138,00	0,127	-44,70	0,034	-43,20	0,039	5,68

NE A m. G. (2) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	132,80	0,105	-44,90	0,035	-45,60	0,036	5,61
	131,50	0,099	-44,60	0,035	-46,60	0,036	5,60
	130,20	0,113	-45,30	0,035	-43,60	0,036	5,60

NE A m. G. (3) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	130,00	0,104	-51,30	0,035	-45,90	0,041	5,73
	129,50	0,118	-53,70	0,035	-44,00	0,042	5,72
	128,80	0,072	-49,80	0,035	-43,50	0,042	5,71

NE A m. G. (1) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	139,80	0,101	-42,20	0,036			5,73
	137,20	0,125	-43,50	0,036			5,71
	138,00	0,114	-45,70	0,038			5,69

NE A m. G. (2) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	128,50	0,125	-47,40	0,037			5,34
	127,80	0,122	-47,00	0,038			5,34
	127,00	0,126	-48,40	0,042			5,32

NE A m. G. (3) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	132,70	0,112	-45,40	0,034			5,73
	132,90	0,115	-44,40	0,034			5,73
	131,80	0,110	-44,90	0,035			5,73

NE A m. G. (1) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	143,20	0,113	-41,80	0,035	-43,80	0,034	5,77
	142,20	0,107	-40,80	0,035	-42,90	0,034	5,72
	144,20	0,072	-42,50	0,036	-44,80	0,035	5,74

NE A m. G. (2) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	131,50	0,096	-42,70	0,047	-43,40	0,043	4,92
	130,30	0,094	-37,20	0,039	-41,90	0,047	4,93
	130,40	0,089	-43,80	0,040	-42,20	0,040	4,92

NE A m. G. (3) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	130,70	0,111	-44,80	0,043	-42,70	0,036	5,71
	130,00	0,110	-42,50	0,038	-37,40	0,037	5,71
	128,50	0,106	-36,20	0,038	-43,20	0,037	5,73

NE A m. G. (1) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	144,00	0,103	-42,80	0,034			5,78
	140,70	0,113	-42,50	0,036			5,77
	139,80	0,098	-43,30	0,043			5,78

NE A m. G. (2) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	125,60	0,137	-40,70	0,041			4,77
	128,20	0,098	-42,00	0,041			4,76
	127,70	0,109	-40,60	0,043			4,76

NE A m. G. (3) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	131,90	0,099	-42,00	0,032			5,67
	129,60	0,120	-43,30	0,035			5,69
	129,40	0,106	-43,40	0,041			5,70

NE A m. G. (1) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	142,50	0,100	-43,40	0,033	-43,70	0,039	5,86
	138,50	0,106	-42,90	0,033	-42,50	0,044	5,87
	138,60	0,108	-44,40	0,033	-44,40	0,036	5,86

NE A m. G. (2) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	130,30	0,111	-40,20	0,043	-42,70	0,046	4,69
	129,60	0,097	-40,60	0,043	-39,20	0,047	4,69
	128,70	0,113	-41,30	0,044	-42,60	0,047	4,67

NE A m. G. (3) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	132,80	0,123	-44,00	0,035	-43,30	0,040	5,69
	130,10	0,123	-45,30	0,035	-45,60	0,046	5,70
	131,40	0,110	-43,10	0,036	-42,60	0,037	5,71

NE A m. G. (1) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	141,30	0,100	-43,00	0,035			5,82
	139,00	0,106	-43,00	0,034			5,84
	139,90	0,081	-46,00	0,034			5,84

NE A m. G. (2) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	130,90	0,089	-45,00	0,050			4,43
	129,10	0,097	-46,10	0,056			4,42
	127,80	0,120	-40,00	0,049			4,42

NE A m. G. (3) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	132,00	0,117	-43,90	0,037			5,40
	130,20	0,104	-43,60	0,037			5,41
	129,80	0,092	-43,70	0,037			5,41

NE A m. G. (1) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	140,60	0,081	-43,50	0,036	-46,30	0,035	5,82
	141,40	0,109	-44,50	0,041	-43,90	0,036	5,84
	139,80	0,105	-42,50	0,042	-44,20	0,036	5,84

NE A m. G. (2) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	129,70	0,124	-41,10	0,050	-39,10	0,053	4,38
	127,90	0,102	-40,60	0,050	-39,70	0,053	4,37
	128,40	0,110	-40,40	0,050	-40,10	0,054	4,36

NE A m. G. (3) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	134,10	0,117	-42,20	0,048	-43,70	0,049	4,31
	131,90	0,095	-43,50	0,049	-42,40	0,049	4,32
	132,10	0,110	-44,70	0,051	-40,30	0,049	4,33

NE B m. G.:

NE B m. G. (1) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	100,70	0,105	-44,50	0,036			5,60
	101,00	0,089	-49,60	0,036			5,59
	98,49	0,086	-45,90	0,036			5,59

NE B m. G. (2) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	98,40	0,113	-47,10	0,038			5,72
	97,79	0,088	-44,80	0,039			5,71
	96,73	0,127	-43,80	0,043			5,70

NE B m. G. (3) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	95,15	0,073	-46,10	0,035			5,61
	94,44	0,097	-41,20	0,035			5,61
	94,71	0,076	-43,70	0,035			5,61

NE B m. G. (1) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	101,10	0,076	-47,00	0,033	-42,50	0,035	5,53
	101,40	0,080	-40,90	0,033	-44,50	0,036	5,51
	99,33	0,082	-44,70	0,033	-44,60	0,036	5,51

NE B m. G. (2) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	103,60	0,087	-48,20	0,038	-44,60	0,039	5,74
	103,00	0,072	-47,60	0,042	-45,20	0,040	5,75
	102,60	0,083	-42,60	0,043	-46,20	0,041	5,74

NE B m. G. (3) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	95,21	0,088	-35,90	0,071	-34,60	0,060	5,55
	95,14	0,087	-32,30	0,067	-33,00	0,062	5,56
	94,41	0,084	-33,50	0,068	-42,20	0,064	5,54

NE B m. G. (1) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	99,09	0,085	-40,70	0,036			5,22
	99,55	0,069	-41,00	0,036			5,24
	99,75	0,085	-41,80	0,036			5,22

NE B m. G. (2) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	98,42	0,110	-45,10	0,036			5,72
	96,39	0,103	-50,70	0,036			5,71
	96,65	0,095	-50,70	0,036			5,71

NE B m. G. (3) Woche 2	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	98,61	0,077	-45,70	0,034			5,64
	97,31	0,087	-47,40	0,034			5,65
	95,79	0,090	-44,50	0,034			5,64

NE B m. G. (1) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	100,90	0,069	-34,10	0,047	-36,70	0,041	4,82
	100,20	0,063	-40,20	0,050	-38,30	0,040	4,80
	98,58	0,082	-35,50	0,042	-46,70	0,040	4,81

NE B m. G. (2) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	98,04	0,085	-46,90	0,037	-47,40	0,046	5,68
	96,78	0,102	-49,30	0,037	-49,10	0,038	5,72
	97,26	0,098	-56,70	0,037	-52,80	0,038	5,68

NE B m. G. (3) Woche 4	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	98,23	0,066	-40,80	0,035	-43,90	0,035	5,79
	95,47	0,078	-40,60	0,035	-42,00	0,036	5,77
	96,71	0,081	-42,00	0,035	-44,80	0,038	5,76

NE B m. G. (1) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	103,00	0,042	-49,40	0,045			4,45
	101,40	0,051	-42,10	0,045			4,41
	101,10	0,097	-42,80	0,045			4,39

NE B m. G. (2) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	100,10	0,093	-49,20	0,037			5,71
	97,97	0,107	-51,00	0,038			5,71
	97,98	0,078	-49,50	0,038			5,71

NE B m. G. (3) Woche 6	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	99,73	0,076	-42,50	0,032			5,85
	98,41	0,068	-48,80	0,033			5,86
	97,21	0,067	-41,80	0,038			5,87

NE B m. G. (1) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	100,30	0,098	-41,30	0,051	-42,00	0,055	4,24
	100,00	0,085	-37,80	0,052	-38,50	0,056	4,23
	100,30	0,091	-42,00	0,056	-42,20	0,060	4,22

NE B m. G. (2) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	99,43	0,098	-39,90	0,037	-46,30	0,041	5,80
	97,84	0,102	-47,50	0,037	-43,70	0,046	5,80
	99,25	0,046	-49,10	0,038	-39,90	0,042	5,80

NE B m. G. (3) Woche 8	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	99,05	0,102	-52,30	0,033	-46,30	0,035	6,08
	98,84	0,058	-41,60	0,034	-42,60	0,035	6,07
	97,72	0,079	-49,30	0,034	-42,60	0,035	6,09

NE B m. G. (1) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	100,80	0,094	-44,50	0,055			4,08
	100,60	0,085	-44,70	0,056			4,09
	100,60	0,089	-44,40	0,056			4,10

NE B m. G. (2) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	100,90	0,087	-47,80	0,038			5,68
	99,91	0,092	-45,70	0,045			5,68
	99,95	0,062	-48,20	0,042			5,68

NE B m. G. (3) Woche 10	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	98,94	0,123	-46,70	0,039			6,04
	99,02	0,089	-51,20	0,043			6,05
	98,88	0,092	-45,50	0,034			6,05

NE B m. G. (1) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	101,50	0,082	-37,40	0,056	-37,30	0,055	4,09
	101,40	0,094	-36,60	0,058	-34,50	0,055	4,09
	100,80	0,121	-46,70	0,061	-36,90	0,056	4,09

NE B m. G. (2) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	98,57	0,084	-38,50	0,038	-42,60	0,038	5,69
	98,93	0,097	-42,50	0,038	-33,30	0,039	5,69
	98,60	0,076	-42,60	0,038	-38,20	0,046	5,69

NE B m. G. (3) Woche 12	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	98,44	0,067	-44,50	0,035	-47,10	0,036	5,98
	97,17	0,066	-39,90	0,035	-51,30	0,036	5,99
	98,41	0,046	-44,40	0,035	-47,00	0,036	5,99

NE C m. G.:

NE C m. G. (1) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	178,30	0,075	-47,40	0,034			5,68
	177,30	0,070	-45,90	0,038			5,66
	174,60	0,084	-47,50	0,043			5,65

NE C m. G. (2) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	173,60	0,064	-50,70	0,034			5,60
	173,40	0,086	-53,00	0,034			5,63
	172,40	0,076	-52,80	0,035			5,63

NE C m. G. (3) Woche 0	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	175,60	0,076	-52,50	0,044			5,64
	174,60	0,075	-52,80	0,036			5,66
	174,00	0,091	-49,30	0,036			5,64

NE C m. G. (1) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	287,50	0,230	-58,80	0,031	-55,40	0,040	5,74
	285,10	0,261	-58,80	0,032	-57,00	0,034	5,71
	286,70	0,237	-58,80	0,032	-57,50	0,034	5,71

NE C m. G. (2) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	323,80	0,202	-57,00	0,033	-61,50	0,037	5,58
	320,20	0,194	-58,00	0,033	-58,30	0,037	5,56
	311,70	0,125	-58,20	0,034	-60,10	0,037	5,56

NE C m. G. (3) Woche 1	Z-Ave (d.nm)	PdI	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	ZP (mV)	Cond (mS/cm)	pH
	307,70	0,233	-61,90	0,039	-59,80	0,036	5,64
	306,30	0,220	-63,10	0,040	-60,00	0,036	5,68
	305,50	0,184	-63,30	0,043	-60,00	0,036	5,69

TEWL Messungen

Versuch 1		Versuch 2		Versuch 3	
A1	8,938	A2	12,895	A3	13,484
A2	8,747	A3	10,920	A5	10,428
B2	11,733	B2	9,909	B1	14,042
B3	12,582	B3	8,705	B4	10,303
W2	11,416	W1	9,857	W2	12,727
W4	13,238	W2	8,715	W5	12,553
W5	10,771				

Franz-Zellen Permeationsversuche in µg/ml

	(1)	(2)	(3)
A1 - 8h	0,54	0,10	1,33
A1 - 24h	1,75	3,40	3,73
A1 - 28h	2,47	4,25	4,39
A2 - 8h	0,10	1,02	0,37
A2 - 24h	3,85	6,00	2,34
A2 - 28h	4,35	6,64	3,11
A3 - 8h	0,84	0,47	3,96
A3 - 24h	5,21	4,41	6,18
A3 - 28h	6,11	5,44	6,50
A4 - 8h	0,47	0,34	1,99
A4 - 24h	4,27	2,34	6,65
A4 - 28h	4,58	3,13	6,90
A5 - 8h	3,13	0,72	0,10
A5 - 24h	5,32	5,32	2,36
A5 - 28h	5,52	5,54	3,10
B1 - 6h	0,53	x	2,68
B1 - 8h	0,53	x	3,65
B1 - 24h	2,07	x	6,75
B1 - 28h	1,97	x	6,66
B2 - 6h	0,54	1,22	4,09
B2 - 8h	0,58	1,33	3,77
B2 - 24h	1,92	2,24	4,36
B2 - 28h	1,91	2,85	4,46
B3 - 6h	0,36	0,38	0,77
B3 - 8h	0,58	0,37	0,88
B3 - 24h	1,77	0,86	3,88
B3 - 28h	1,71	1,13	3,55
B4 - 6h	0,89	1,58	x
B4 - 8h	1,05	2,38	x
B4 - 24h	3,23	5,97	x

B4 - 28h	3,73	6,61	x
B5 - 6h	0,10	0,10	x
B5 - 8h	0,36	0,10	x
B5 - 24h	1,65	2,19	x
B5 - 28h	2,08	2,70	x
W1 - 6h	0,86	1,47	1,60
W1 - 8h	1,57	1,61	1,69
W1 - 24h	5,95	4,33	6,04
W1 - 28h	6,67	5,24	7,64
W2 - 6h	2,87	0,10	20,14
W2 - 8h	4,24	0,10	19,14
W2 - 24h	4,25	2,99	19,06
W2 - 28h	6,19	4,62	17,99
W3 - 6h	13,54	1,91	0,47
W3 - 8h	11,80	2,71	0,95
W3 - 24h	11,33	9,30	6,50
W3 - 28h	12,28	10,59	6,70
W4 - 6h	27,71	0,57	0,95
W4 - 8h	29,70	0,63	1,04
W4 - 24h	31,22	2,80	4,05
W4 - 28h	24,87	3,58	5,95
W5 - 6h	4,02	1,06	6,55
W5 - 8h	3,64	1,89	6,85
W5 - 24h	6,59	8,06	8,66
W5 - 28h	6,68	8,62	8,57