

Abschlussbericht von Projekt 2898:

Untersuchungen zur Verkapselung von Aromastoffen in amorphen Matrices via formgebender Extrusion für Anwendungen im Bereich Life Sciences (Pharma, Lebensmittel)

Stipendiat: Markus W. Tackenberg

Betreuender Hochschullehrer: Prof. Dr. P. Kleinebudde

Anschrift: Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie, Universitätsstr. 1, 40225 Düsseldorf

Das Arbeitsprogramm dieser Forschungsarbeit, festgelegt bei Antragsstellung im September 2009, wurde auf drei Jahre ausgelegt.

Abstract

In dieser Arbeit wurde Carvacrol exemplarisch für ein Aroma ausgewählt und bzgl. Stabilität und Flüchtigkeit untersucht. Ausgewählte Kohlenhydrate bildeten zusammen mit Wasser in Sprühtrocknungs- und Extrusionsprozessen binäre und tertiäre Matrices. Die Glasübergangstemperatur (T_g) wurde mittels Dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC) ermittelt. Der Einfluss der unterschiedlichen Kohlenhydrate und der Wasseraktivität (a_w) auf die T_g wurde untersucht. Die Ermittlung der T_g war essentiell, um die Stabilität von verkapseltem Aroma in amorphen kohlenhydratbasierten Matrices untersuchen zu können.

Einleitung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Extrusionsprozessparameter und die Produkteigenschaften der gewonnen Extrudate sowie sprühtrockneter Matrices untersucht um einen Verkapselungsprozess von Aromastoffen in amorphe Matrices für pharmazeutische und lebensmitteltechnische Anwendungen auslegen zu können. Die Substanz Carvacrol (Isothymol) (Abb. 1), ein terpenoider sekundärer Pflanzenstoff des Thymians und Oreganos mit charakteristischem Geruch und antimikrobiellen Wirkspektrum (Du et al., 2008; Kordali et al., 2008) wurde als Modellstoff für diese Forschungsarbeit ausgewählt. Dabei steht diese Substanz sowohl für flüssige lipophile niedermolekulare Arzneistoffe als auch für leicht wasserdampfliche Lebensmitteladditive wie Aromen.

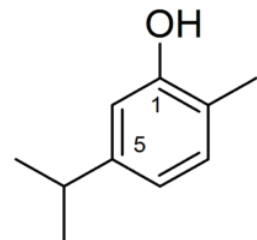


Abb. 1: Carvacrol

Verschiedene Trägermaterialien wurden als Bestandteile für die amorphe Matrix untersucht. Problematisch dabei war, dass viele pharmazeutisch eingesetzte Polymere keinen Einsatz in Lebensmitteln zulassen. Kohlenhydrate hingegen, welche oft amorph vorliegen oder sich mit bestimmten Verfahren amorph herstellen lassen, werden für diverse Anwendungen im Bereich Life Sciences eingesetzt. In der Aromenindustrie werden ebenso seit vielen Jahren in unterschiedlichen Verkapselungsverfahren diverse Kohlenhydrate (teilweise modifizierte Stärken, Stärkederivate, Maltodextrine, Glucosesirupe, Mono- und Disaccharide) eingesetzt (Risch und Reineccius, 1988). Im speziellen für die Aromenverkapselung mittels Extrusion wird meist ein Gemisch von einem Maltodextrin mit einem „kleineren Zucker“ verwendet (Uhlemann und Reiß, 2009). Ein Maltodextrin

ist ein nicht süßes, vor allem über alpha-1-4-Bindungen verknüpftes Glucosepolymer (Abb. 2) für Lebensmittelzwecke (Code of Federal Regulations Titel 21, U.S. Food and Drug Administration - FDA). Als „kleinere Zucker“ werden hauptsächlich Disaccharide, wie Saccharose, Maltose, Laktose oder Disaccharidalkohole wie Isomalt, verwendet. Für die Kombination dieser niedermolekularen Kohlenhydrate (NMK) mit Maltodextrinen gibt es zwei Gründe: Zum einen ist dies die gezielte Steuerung der Glasübergangstemperatur (T_g), welche einen wichtigen Einfluss auf die Stabilität verkapselter Aromen oder verwandter Substanzen besitzt (Levi und Karel, 1995; Bhandari und Howes, 1999; Gunning et al., 1999; Uhlemann und Reiß, 2009). Zum anderen erhöhen die NMK den molekularen Packungsgrad und verringern das Hohlraumvolumen in der amorphen Matrix (Kilburn et al., 2005). Dies reduziert die Beweglichkeit eingeschlossener Aromen und führt damit zu einem geringeren Verlust während der Lagerung.

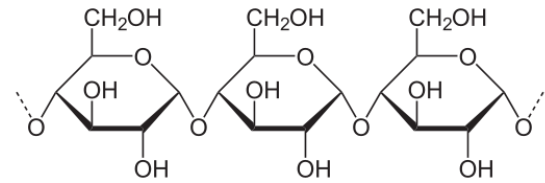


Abb. 2: Ausschnitt aus einem Glucosepolymer mit alpha-1-4-glykosidischen Bindungen

An der T_g geht eine spröde, glasartig vorliegende amorphe Substanz, z.B. ein Maltodextrin in einen weichen, gummi- bzw. honigartigen Zustand mit erhöhtem freiem Volumen, niedrigerer Viskosität und vergrößerter Beweglichkeit der Moleküle, über. In diesem weichen Zustand lassen sich Aromen gut einmischen, im glasartigen Zustand lassen sie sich gut stabilisieren. Die T_g hängt bei Glucosepolymeren wie Stärken, Maltodextrinen, Maltose und Glucose von dem Molekulargewicht ab und kann mit (1) abgeschätzt werden (Roos und Karel, 1991a).

$$T_g = T_{g_{\text{maximal}}} - \frac{K_g}{M_n} \quad (1)$$

- K_g = stoffspezifische Konstante; 52.800 g/mol bei Maltodextrinen (Roos und Karel, 1991b)
- $T_{g_{\text{maximal}}}$ = Glasübergangstemperatur beim Polymer mit höchstem Molekulargewicht; 243 °C bei Maltodextrine (Roos und Karel, 1991b)
- M_n = Molekulargewicht

Damit hat die höchste T_g das Glucosepolymer mit dem höchsten Molekulargewicht (Stärke). Ein Kohlenhydrat oder eine Matrix mit einer zu niedrigen Glasübergangstemperatur (bei vielen Mono- oder Disaccharide) bedingt meist eine hohe Rekristallisationsrate. Eine dauerhafte Lagerstabilität von verkapselten Aromen ist damit nicht gewährleistet.

Ein weiterer wichtiger Parameter ist die Wasseraktivität (a_w). Mit steigender a_w sinkt die T_g von amorphen Kohlenhydraten womit ein Übergang in den gummielatischen honigartigen Zustand vereinfacht wird. Roos und Karel (1991a, 1991c) beschreiben eine, für einen großen Bereich der Wasseraktivität gültige, lineare Reduktion der T_g . Die Bindungskräfte der Kohlenhydratmoleküle untereinander werden mit steigender a_w reduziert und der Raum zwischen den Molekülen vergrößert. Beides führt zu einem größeren freien Volumen und erhöhter Bewegungsfreiheit der Moleküle (Abiad et al., 2009).

Anfang der 1990er Jahre hat sich herausgestellt, dass durch verschiedene Verfahren, wie Sprühtrocknung oder Extrusion aus einem NMK wie z.B. einem Disaccharid und einem Maltodextrin eine Kohlenhydratmatrix mit einer „mittleren“ T_g hergestellt werden kann (Levi und Karel, 1995). Die Glasübergangstemperatur ($T_{g_{\text{mix}}}$) dieser Matrix ist abhängig von den T_g der einzelnen reinen

Substanzen (Tg_1 und Tg_2) und lässt sich mit der von Gordon und Taylor (1952) für Kunststoffpolymere aufgestellten Gleichung (2), berechnen (Roos und Karel, 1991a).

$$Tg_{mix} = \frac{w_1 Tg_1 + k w_2 Tg_2}{w_1 + k w_2} \quad (2)$$

- w = Massenanteil der jeweiligen beiden Stoffe (1 und 2)
- Tg_{mix} = Glasübergangstemperatur der Mischung
- Tg_1 und Tg_2 = Glasübergangstemperatur der beiden Reinstoffe 1 und 2
- k = Konstante

Die Gordon-Taylor-Gleichung (2) gilt nur dann, wenn die verwendeten Substanzen sich ideal im Volumen ergänzen und spezifische Interaktionen untereinander ausgeschlossen sind (Hancock und Zografi, 1994). Dies kann bei hydrophilen Kohlenhydratsystemen nicht ausgeschlossen werden (Ubbink et al., 2007). Allerdings kann durch Abschätzung der Konstanten k als Anpassungsparameter mit einer ausreichenden Menge an experimentellen Werten, (2) für Kohlenhydratmatrices verwendet werden (Bhandari und Howes, 1999; Palzer, 2010).

Auf Grund dieser Vorkenntnisse wurden für diese Forschungsarbeit verschiedene Maltodextrine und Disaccharide bzw. Disaccharidalkohole ausgesucht und auf eine mögliche Verwendung für den Extrusionsprozess untersucht.

Materialien und Methoden

Modellsubstanz Carvacrol

Zur Analyse der Molekülstabilität wurde Carvacrol in einem Lichtschrank unter Argon-Schutzgasatmosphäre ultraviolettem (UV, Lichtquelle: Osram L18-73) und sichtbarem (VIS: Osram L18W/940 Lumilux Cool White) Licht sowie unter Lichtausschluss einer Sauerstoff (O_2) Atmosphäre für drei Monate ausgesetzt und anschließend mittels Gaschromatographie (6850 Series GC-System mit FID-Detektor, Agilent Technologies) untersucht. Die Flüchtigkeit dieser Substanz wurde in einem Klimaschrank (ESPEC PR-1ST, Thermotec GmbH) durch den Massenverlust bei 25 °C und 60 % relativer Feuchte (r.F.) bestimmt und mit dem Massenverlust anderer bekannter flüchtiger Substanzen (Isopropanol, Aceton, Ethanol 99 %, Wasser) verglichen.

Thermo Moulding Verfahren

In ersten, extrusionsvorbereitenden, Versuchen wurde Carvacrol mit dem Fluoreszenz Farbstoff Nilrot (Acros Organics) versetzt, mittels Thermo Moulding in eine amorphe Matrix aus dem Zuckeralkohol Isomalt (galenIQ™ 720, Südzucker AG) eingebracht und die Struktur mittels Konfokaler Laser-Raster-Mikroskopie (CLSM, Zeiss LSM 510 Meta, Carl Zeiss MicroImaging GmbH) untersucht. Der Carvacrolgehalt wurde photometrisch bei 273 nm (λ 12, PerkinElmer) bestimmt.

Sprühtrocknung

Neben Isomalt wurden als NMK auch die Disaccharide Maltose Monohydrat (EMPROVE[®] exp, Merck KGaA) und Saccharose (Compri-Zucker O bzw. Puder Raffinade, Südzucker AG) ausgewählt. Diese wurden in verschiedenen Mischungen zusammen mit einem Maltodextrin (Glucidex[®] bzw. Kleptose[®] Linecaps, Roquette Frères) unterschiedlicher DE-Werte (6, 12, 17) in demineralisiertem Wasser gelöst und anschließend sprühtrocknet (Büchi Minispry Dryer B-191, Büchi Labortechnik AG). Zur

Ermittlung des Wassergehalts wurden die erhaltenen Pulver 7 – 10 Tage über Phosphorpentoxid (Sicapent[®], Merck KGaA) getrocknet und der Wasserverlust gravimetrisch bestimmt. Die Sorptionsisotherme zur Korrelation von Wasseraktivität (a_w) und Wassergehalt wurde bei 25 °C Solltemperatur aufgenommen (SPS 11, PMT Analytical GmbH & Co. KG) und mittels der Guggenheim-Anderson-de Boer Gleichung (GAB) (5) angepasst. Die Glasübergangstemperatur (T_g , mit $T_{g_{onset}}$ als Beginn der Phasenumwandlung, $T_{g_{midpoint}}$ als Mittelpunkt und $T_{g_{offset}}$ als Ende der Phasenumwandlung) der sprühtrockneten Pulver wurde mittels Dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC, Diamond DSC bzw. DSC 8000, PerkinElmer) untersucht (Abb. 3) und mit der Gordon-Taylor-Gleichung (2) korreliert.

Extrusion

Die Extrusion ausgewählter Matrixmaterialien (Saccharose als NMK und Glucidex[®] D12 als Glucosepolymer) sowie unter Zusatz von 0,22 % hochdispersem Siliciumdioxid (Aerosil[®] 200, Evonik Industries AG) als Fließregulierungsmittel zur gleichmäßigen Dosierung der Feststoffmischung in den Extruder, wurde auf einem gegenläufigen Doppelschneckenextruder (HB-Feinmechanik GmbH & Co. KG) mit einem Prozessraum von 140,4 cm Länge, einem Schneckendurchmesser von 26 mm (13 Zylinder, 54 D) und einer Düse mit 10 Öffnungen mit je 2,5 mm Durchmesser durchgeführt. Als konstante Parameter wurden 80 Umdrehungen pro Minute als Schneckenrehzahl und 3,5 kg/h Massenstrom der Feststoffmischung festgelegt. Variiert wurde die Flüssigdosierate des Wassers und die Gehäusetemperatur. Die Produkttemperatur wurde mittels Infrarotthermometer am Düsenaustritt ermittelt und der Durchmesser der Extrudate nach dem Abkühlen aus 10 Messungen mittels Messschieber ermittelt. Die erhaltenen Proben wurden per Hand gemörsert und mittels DSC (DSC 8000, PerkinElmer) sowie Röntgendiffraktometrie (XRD, X'Pert PRO, PANalytical) auf die Glasübergangstemperatur und Kristallinität hin untersucht. Die Wasseraktivität der Extrudate wurde bei 25 °C in einer Hygrostatenkammer (a_w -Sprint, Novasina AG) bestimmt.

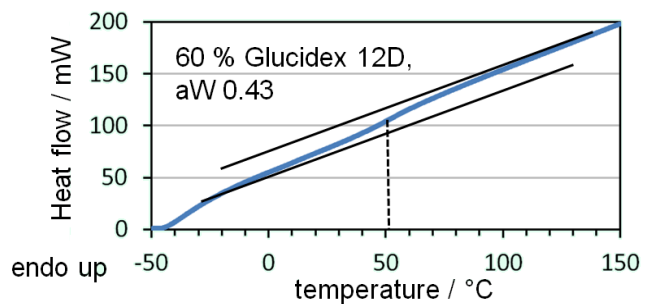


Abb. 3: DSC-Kurve mit dem Bereich der Glasübergangstemperatur (T_g) am Beispiel einer sprühtrockneten Kohlenhydratmischung aus 60 % Glucidex[®] D12 und 40 % Saccharose bei einer Wasseraktivität von 0,43

Ergebnisse und Diskussion

Untersuchung von Carvacrol

Zur Ermittlung der Flüchtigkeit wurden Carvacrol und Vergleichssubstanzen (demineralisiertes Wasser, Isopropanol, Ethanol 99 % und Aceton) in einem Klimaschrank unter definierten Bedingungen (25 °C und 60 % r.F.) gelagert und der linear verlaufenden Massenverlust von 3,0 g Substanz kontinuierlich mit einer Waage ermittelt. Alle Messungen wurden zweimal durchgeführt und immer ein Bestimmtheitsmaß (R^2 von $> 0,99$) erzielt. Der Massenverlust in Gramm wurde anschließend pro Minute und pro Quadratmeter Oberfläche berechnet. Es konnte festgestellt werden, dass Carvacrol trotz seines intensiven Geruches und dem damit verbundenen Molekülübergang in die Gasphase, im Vergleich zu den anderen Substanzen, nicht leicht flüchtig ist. Wasser besitzt eine 64-fach höhere, Isopropanol eine 486-fach und Aceton eine 1898-fach höhere Flüchtigkeit als Carvacrol (Tabelle 1, Abb. 4).

Tab. 1: Flüchtigkeit in $\text{g}/(\text{min}\cdot\text{m}^2)$ bei 25 °C und 60 % r.F. Feuchte von verschiedenen Substanzen

Carvacrol	demin. Wasser	Isopropanol	Ethanol 99 %	Aceton
0,07	4,88	37,04	42,22	144,68

Allerdings muss auch die Wasserdampflichkeit, die eine typische Eigenschaft aller Monoterpene ist, beachtet werden (bisher noch nicht untersucht). Diese könnte im Extrusionsprozess eine Rolle spielen, wenn das heiße Extrudat aus der Düse austritt und abkühlt. Je nach Dauer des Abkühlvorgangs kann mehr oder weniger Wasser verdampfen und Carvacrol mit sich ziehen.

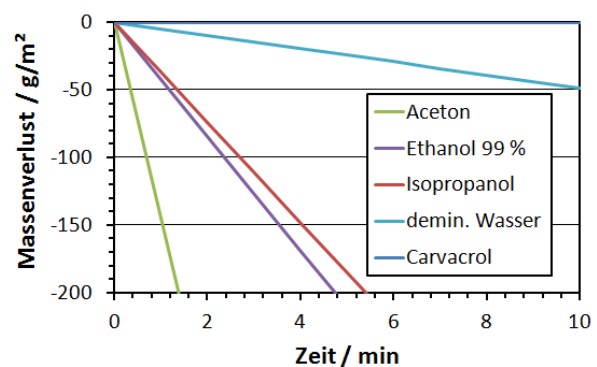


Abb. 4: Massenverlust (g/m^2) verschieden flüchtiger Substanzen

Neben der Flüchtigkeit wurde die chemische Stabilität des Carvacrols, eines Monoterpens mit aromatischer Hydroxylgruppe, untersucht. Dazu wurde Carvacrol in verschlossenen Weißglasgefäßen verschiedenen äußeren Einflüssen (unter Argon Atmosphäre mit VIS Bestrahlung, unter Argon Atmosphäre mit UV Bestrahlung, unter Sauerstoff Atmosphäre mit Lichtausschluss und als Blindprobe unter Argon Atmosphäre mit Lichtausschluss) ausgesetzt und anschließend mittels Gaschromatographie auf Abbauprodukte untersucht. Nach 84 Tagen konnte in allen vier Proben ein Carvacrolgehalt von > 99 % detektiert werden (Daten nicht gezeigt). Allerdings sollte beachtet werden, dass unter Extrusionsbedingungen durch Scher- und/oder Temperatureinfluss chemische Reaktionen mit anderen verwendeten Substanzen eintreten könnten.

Thermo Moulding

Durch Thermo Moulding mit einer selbst entwickelten Arbeitseinheit (Abb. 5a) konnte gezeigt werden, dass Carvacrol in amorphes Isomalt oberhalb der Glasübergangstemperatur ($T_{\text{gmidpoint}}$: 58 °C, Cammenga et al., 1996) eingebracht werden konnte. Nach dem Abkühlen unter die Glasübergangstemperatur in den glasartigen, festen Zustand, der Matrix (Abb. 5b) wurden 20 % des

verwendeten Carvacrols für mindestens 1 Woche stabil eingeschlossen (Daten nicht gezeigt). Zum Vergleich wurde die gleiche Menge Carvacrol auf amorphes, pulverisiertes Isomalt getropft. Ohne das Thermo Moulding Verfahren konnte nach 3 Tagen kein Carvacrol mehr photometrisch detektiert werden. Eine höhere Einschussrate lässt sich sicher durch Prozesse mit Mischvorgängen, wie die Extrusion, erzielen. Durch das Lösen des lipophilen Farbstoffes Nilrot in Carvacrol konnten mittels CLS Mikroskopie die eingeschlossenen Öltröpfchen in der Isomaltmatrix sichtbar gemacht werden (Abb. 5c). Dabei wurden Tröpfchengrößen mit bis zu 150 μm Durchmesser detektiert. In späteren Extrusionsversuchen soll durch die Variation verschiedener Prozessparameter (Schneckendrehzahl, Knet- und Mischelemente) versucht werden unterschiedliche Tröpfchengrößenverteilungen (TGV) einzustellen. Anschließend soll geklärt werden, ob eine Verringerung der TGV zu einer erhöhten Verkapselungsstabilität von Carvacrol führt.

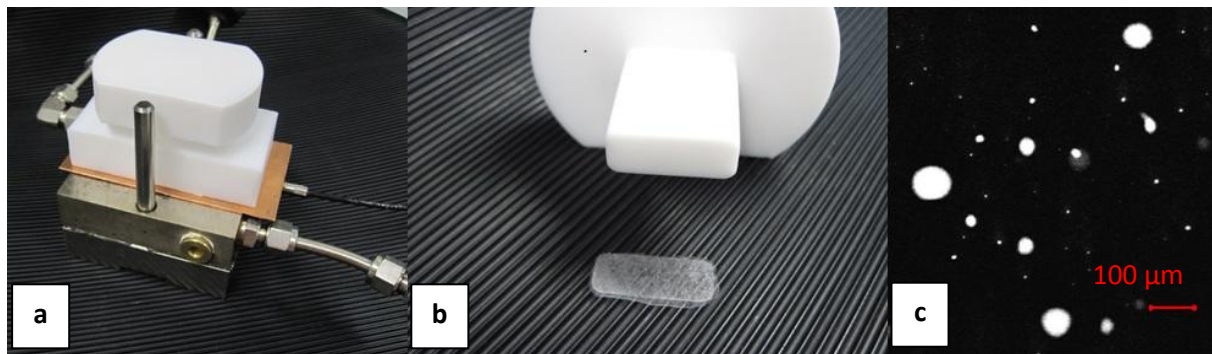


Abb. 5: a) Thermo Mouldings Einheit mit Tefloneinsatz b) hergestellte amorphe Isomaltmatrix c) Carvacroltropfen in amorpher Isomaltmatrix sichtbar gemacht mittels CLS Mikroskopie

Matrixuntersuchungen mittels Sprühtrocknung

Durch Kombination eines NMK (Isomalt, Saccharose, Maltose) mit einem Maltodextrin (Glucidex® D17) wurden in den folgenden Sprühtrocknungsversuchen Matrices mit unterschiedlichen Glasübergangstemperaturen ($T_{g_{mix}}$) hergestellt. Die $T_{g_{mix}}$ (als $T_{g_{midpoint}}$) wurde mittels DSC ermittelt. Der Einfluss der T_g der niedermolekularen Kohlenhydrate auf die $T_{g_{mix}}$ wurde untersucht und mit der Gordon-Taylor Gleichung (2) korreliert, wobei die T_g der verschiedenen NMK der Literatur entnommen wurden (Cammenga et al., 1996; Roos, 1993).

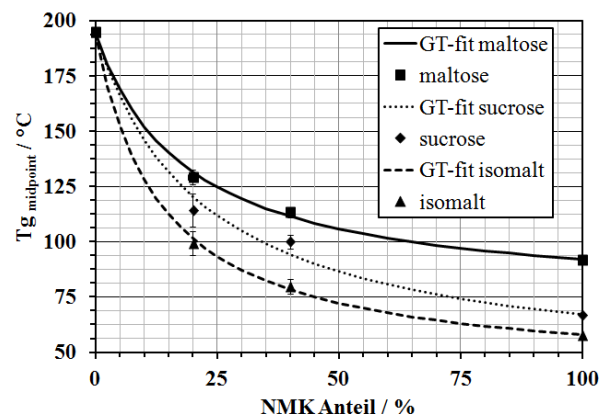


Abb. 6: Reduzierung des $T_{g_{midpoint}}$ mit steigendem Anteil von niedermolekularen Kohlenhydraten an der Matrix

Abb. 6 zeigt eine Reduktion der $T_{g_{mix}}$ mit steigendem Anteil an NMK. Dabei führt bereits ein geringer Anteil an NMK zu einer starken Reduktion der $T_{g_{mix}}$. Mit weiterer Erhöhung des Anteils an NMK (> 20 %), fällt die Reduktion der $T_{g_{mix}}$ deutlich schwächer aus. Bei gleichem Anteil eines niedermolekularen Kohlenhydrats wird die $T_{g_{mix}}$ hauptsächlich durch die verschiedenen Glasübergangstemperaturen der unterschiedlichen NMK beeinflusst. Maltose besitzt die höchste T_g ($T_{g_{midpoint}}$ 92 $^{\circ}\text{C}$), gefolgt von Saccharose (67 $^{\circ}\text{C}$) und Isomalt (58 $^{\circ}\text{C}$). Somit besitzen auch alle sprühtrockneten Matrices mit Maltose eine höhere $T_{g_{mix}}$ als Matrices mit Saccharose und Isomalt.

Neben den NMK hat auch die Wasseraktivität (a_w) einen T_g senkenden Effekt (Roos und Karel, 1991a, 1991c). Mit steigender a_w kommt es zu einer Angleichung der $T_{g_{mix}}$ der drei unterschiedlichen Matrices. In den getrockneten Matrices (a_w 0,0) beträgt der Unterschied in der $T_{g_{mix}}$ max. 30 °C. Bei einer a_w von 0,75 beträgt dieser Unterschied max. 4 °C. Die a_w reduziert somit den Einfluss des NMK auf die $T_{g_{mix}}$ der Matrix (Abb. 7).

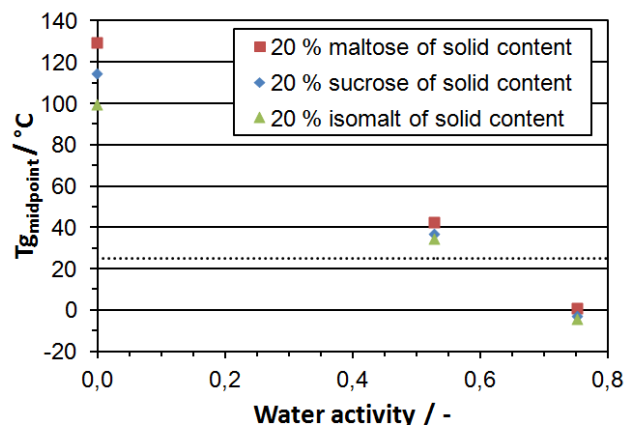


Abb. 7: Reduzierung und Angleichung des $T_{g_{midpoint}}$ mit steigender Wasseraktivität

Wichtig ist das Verhalten der Matrices im Bereich der Lagerungstemperatur (in dieser Forschungsarbeit: 25 °C). Bei einer a_w von 0,53 liegt die Glasübergangstemperatur bei allen Matrices mit $\leq 20\%$ NMK oberhalb von 25 °C. Somit befinden sich alle Matrices im festen glasartigen Zustand. Wird die a_w auf 0,75 erhöht, fällt die T_g unter die Lagerungstemperatur und die Matrices werden weich und gummielastisch. In Abb. 8 ist beispielhaft die Strukturveränderung der sprühgetrockneten Matrix bestehend aus 60 % Maltodextrin Glucidex® D12 und 40 % Saccharose bei einer Lagerungstemperatur von 25 °C und steigender Wasseraktivität dargestellt.

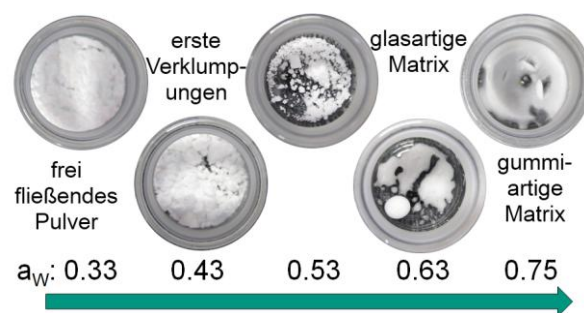


Abb. 8: Optische Veränderung einer sprühgetrockneten Matrix (60 % Maltodextrin Glucidex® D12 und 40 % Saccharose) bei einer Lagerungstemperatur von 25 °C

Neben dem Einfluss der Zucker bzw. Zuckeralkohole auf die T_g der sprühgetrockneten Matrices wurde auch der Einfluss unterschiedlicher Maltodextrine auf die Glasübergangstemperatur der Matrix untersucht. Maltodextrine unterscheiden sich u.a. in der Stärke Ausgangsbasis, aus welcher alle Maltodextrine, meist durch enzymatische Hydrolyse, hergestellt werden. In dieser Forschungsarbeit wurden zwei verschiedene Maltodextrine, Glucidex® und Kleptose® Linecaps eingesetzt. Kleptose® Linecaps zeichnet sich im Vergleich zu Glucidex® durch einen erhöhten Amylosegehalt aus. Kleptose® Linecaps und Glucidex®, mit einer vergleichbaren mittleren Molekülmasse (10.976 Da bzw. 12.000 Da), wurden mit unterschiedlichen Anteilen Saccharose sprühgetrocknet und die T_g dieser Matrices bei verschiedenen a_w mittels DSC ermittelt (Abb. 9). Neben den bekannten Einflüssen von prozentualen Saccharoseanteil und a_w auf die $T_{g_{mix}}$ konnte kein Einfluss der unterschiedlichen Maltodextrine gezeigt werden.

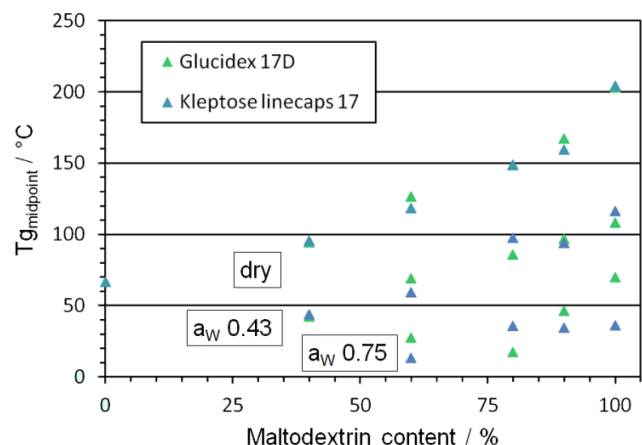


Abb. 9: Kein signifikanter Einfluss unterschiedlicher Maltodextrintypen (Glucidex® und Kleptose® linecaps) mit vergleichbarem Molekulargewicht auf den $T_{g_{midpoint}}$ erkennbar

Ein zweites Kriterium zur Differenzierung von Maltodextrinen ist die Angabe ihres Dextrose Äquivalentes (DE), welches dem prozentualen Anteil der reduzierenden Zucker entspricht. Glucose besitzt somit ein DE von 100. Das DE lässt sich aber auch über (3) mit dem mittleren Molekulargewicht von Glucosepolymeren, wie Maltodextrinen und damit auch mit der Kettenlänge der Polymere, in Verbindung setzen (Levine und Slade, 1986; Rong, 2009):

$$DE = \frac{M_{glucose}}{M_n} \times 100 \quad (3)$$

- $M_{glucose}$ = Molekulargewicht von Glucose (180,16 Da)
- M_n = mittleres Molekulargewicht der untersuchten Substanz

Stärke ist das langkettigste Glucosepolymer und besitzt immer ein DE zwischen 0 und 1, Maltodextrine maximal ein DE von 20 (Code of Federal Regulations Titel 21 – FDA). Eine Bestimmung des mittleren Molekulargewichts ist bei langkettigen Glucosepolymeren wie Stärken oder Maltodextrinen schwierig. Herstellerangaben und wissenschaftliche Untersuchungen liegen meist weit auseinander (Roos und Karel, 1991b; Rong et al., 2009), weshalb (3) nur als Faustformel verwendet werden kann.

Mit steigender Kettenlänge, somit höherem Molekulargewicht und niedrigerem DE-Wert steigt auch die Glasübergangstemperatur der Glucosepolymere, wobei wiederum Stärke den höchsten Tg aufweist. Eine Korrelation von Tg und DE-Wert zeigten Uhlemann und Reiß (2009) durch eine Verknüpfung von (1) und (3) auf:

$$Tg = 243 \text{ °C} - 2,93 \text{ °C} \times DE \quad (4)$$

Mehr als eine Faustformel ist diese Gleichung nicht, da (4) für hohe DE-Werte ungültig ist und für niedrige DE-Werte die Tg nur schwer experimentell nachweisbar ist. Allerdings wird damit gezeigt, dass der DE-Wert eines Maltodextrins Einfluss auf die $T_{g,mix}$ der sprühgetrockneten Matrices haben muss. Dies wurde für Maltodextrine mit DE-Werten von 6, 12 und 17 in Abb. 10 in Abhängigkeit der a_w und des Saccharoseanteils (20 und 40 %) dargestellt.

Die sprühgetrockneten Matrices mit einem Maltodextrin mit dem DE-Wert 6 haben, wie erwartet, bei gleichem Saccharoseanteil und a_w -Wert immer eine höhere Tg als die Matrices mit Maltodextrinen mit den DE-Werten 12 und 17. Bei hohen Wasseraktivitäten

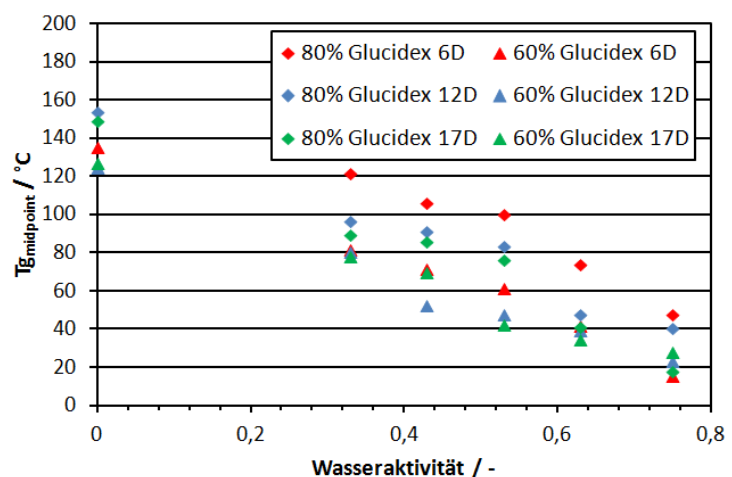


Abb. 10: Reduzierung des Einflusses des DE-Wertes auf den $T_{g,mix}$ bei hohen Wasseraktivitäten

($a_w \geq 0,63$) jedoch ist kein signifikanter Unterschied der Glasübergangstemperaturen der Matrices mit Maltodextrinen mit den DE-Werten 12 und 17 erkennbar. Auch kann der $T_{g,mix}$ bei dieser a_w nicht auf Grund des Saccharoseanteils (20 und 40 %) der Matrix unterschieden werden. Somit reduziert

steigende a_w den Einfluss des DE-Wertes und den Einfluss des Anteils der NMK auf die Glasübergangstemperaturen der sprühgetrockneten Matrices.

Bei dem angestrebten Extrusionsprozess muss neben dem Feststoff kontinuierlich Wasser zu dosiert werden. Durch Messung der Sorptionsisothermen der sprühgetrockneten Matrices wurde eine Korrelation von Wasseraktivität und Wassergehalt hergestellt. Wasseraktivitäten von 0,1 bis 0,8 wurden mit der Guggenheim-Anderson-de Boer Gleichung (GAB) (5) angepasst, wobei immer ein R^2 von $> 0,99$ ermittelt wurde.

$$\frac{m}{m_{mono}} = \frac{C K a_w}{(1 - K a_w)(1 + (C - 1) K a_w)} \quad (5)$$

- m = Wassergehalt
- m_{mono} = Wassergehalt bei dem eine monomolekulare Schicht auf der Oberfläche des trockenen Feststoffes mit Wasser komplett gefüllt ist
- K = GAB-Korrekturfaktor zwischen 0,7 und 1,0 (Figura, 2004) der auf dem Unterschied der freien Enthalpie (chem. Standardpotenzial) der absorbierten Moleküle in der ersten „reinen“ flüssigen Schicht (Monolayer) und der direkten Schicht über dem Monolayer beruht (Timmermann, 2003)
- C = Guggenheim Konstante / Energie Konstante welche ebenfalls auf den Unterschieden des chemischen Potentials zwischen den höheren Schichten (über dem Monolayer) und dem Monolayer basiert (Timmermann, 2003)

Beispielhaft ist in Abb. 11 die Veränderung der Sorptionsisotherme vom Maltodextrin Glucidex® D17 mit steigendem Saccharoseanteil (0, 10, 20, 40 %) an der Matrix dargestellt. Bei höheren a_w -Werten ($\geq 0,4$) nimmt mit steigendem Saccharoseanteil die Wasseraufnahmekapazität zu. Dies kann durch die stark hygroskopischen Eigenschaften der amorphen Saccharose erklärt werden. Bei a_w -Werten $\leq 0,3$ sinkt die Wasseraufnahmekapazität mit steigendem Saccharoseanteil, was durch die dominierenden Eigenschaften des

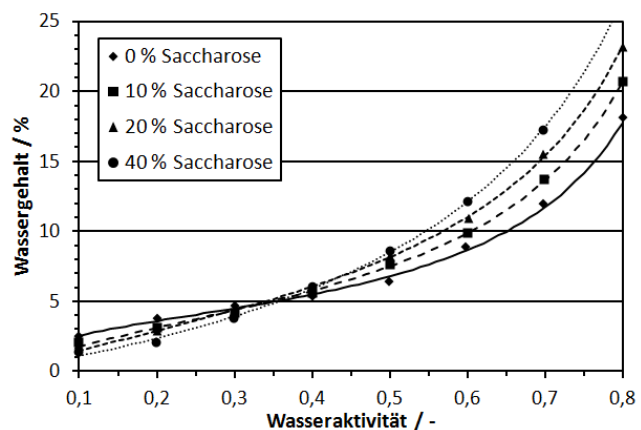


Abb. 11: Einfluss des Saccharoseanteils auf die Sorptionskurven verschiedener sprühgetrockneter Matrices mit Glucidex® D17

Maltodextrinanteils bei niedrigen a_w -Werten erklärt werden kann (Radosta et al., 1989). Auch bei der Matrix mit 60 % Saccharoseanteil bestätigten sich diese beiden beschriebenen Trends bis $a_w \leq 0,6$. Allerdings sinkt die Wasseraufnahmekapazität ab einer $a_w > 0,6$, was sich durch eine Rekristallisation der amorphen Saccharose und der damit verbundenen deutlich geringeren Hygroskopizität erklären lässt (Daten nicht gezeigt).

Matrixuntersuchungen mittels Extrusion

Um eine erfolgreiche Übertragung der bisherigen Erkenntnisse auf den Extrusionsprozess zu gewährleisten, wird als Obergrenze eine $T_g < 80\text{ °C}$ für die Kohlenhydratmatrix des Extrusionsprodukts angestrebt. Eine höhere T_g erfordert höhere Temperaturen bei der Extrusion, welche zu einer unerwünschten Expansion durch Wasserdampfverlust der Matrix führen würde. Als Untergrenze wird eine T_g von $> 25\text{ °C}$ angestrebt. Dies ist notwendig, damit das Extrusionsprodukt bei 25 °C in einer stabilen glasartigen amorphen Struktur vorliegt.

Um ein in Wasser schnell lösliches Produkt zu erhalten, wird ein hoher Anteil an einem NMK benötigt, da diese Substanzgruppe leichter löslich ist als langkettige Kohlenhydrate wie Maltodextrine. Ein zu hoher Anteil an NMK an der Matrix kann, wie gezeigt, bei höheren a_w -Werten rekristallisieren.

Um eine stabile amorphe Kohlenhydratmatrix herzustellen wurde deshalb folgende Mischung ausgewählt:

- Saccharose (56,18 %) als NMK (mit einem Wassergehalt von $< 0,06\%$)
- Glucidex® D12 (43,6 %) als Maltodextrin mit dem DE-Wert 12 (Wassergehalt von $4,71\%$)
- Aerosil® 200 (0,22 %) als Fließregulierungsmittel

Diese Mischung wurde mit einem Massenstrom von $3,5\text{ kg/h}$ zusammen mit 220 g/h Wasser dosiert. Dies bedeutet einen Wassergehalt im Endprodukt von $7,88\%$ und eine korrelierende a_w zwischen $0,4$ und $0,5$ unter Vernachlässigung des Verdampfungsverlust nach Austritt des Produkts aus der Düse.

Das Temperaturprofil des Extruders war wie folgt:
Zylinder 1: unbeheizt, Z. 2-4: 115 °C , Z. 5-6: 110 °C , Z. 7-12: 65 °C , Z. 13: 30 °C , Matrizenkopf: 80 °C . Der Durchmesser der gewonnenen Extrudate betrug $3,75\text{ mm}$ und eine Produkttemperatur von $66-69\text{ °C}$ wurde ermittelt. Ein Vergleich mittels XRD ergab, dass die kristalline eingesetzte Saccharose im Endprodukt entweder weiter kristallin vorliegt oder im Anschluss an den Prozess rekristallisierte (Abb. 12). Um

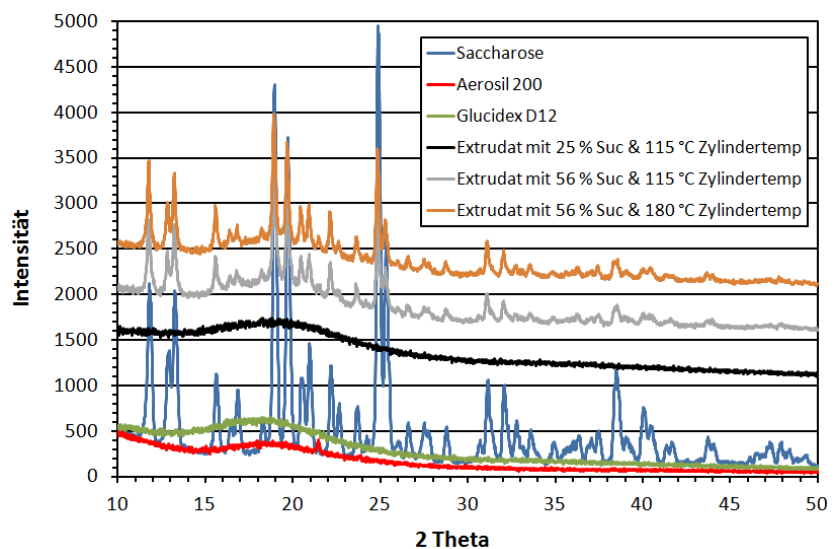


Abb. 12: Röntgendiffraktogramme der Ausgangsmaterialien und hergestellten Extrudate

einen gewünschten Schmelz- bzw. Auflösevorgang der Saccharose im Prozess zu verbessern wurde für den nächsten Extrusionsversuch die Temperatur in den Zylindern 2-4 in Stufen von 115 °C auf 180 °C erhöht. Der Durchmesser der Extrudate erhöhte sich auf $4,17\text{ mm}$ auf Grund der leicht angestiegenen Produkttemperatur von $70-72\text{ °C}$ und der damit verbundenen höheren Expansion. Auch diese Extrudate wiesen im XRD kristalline Saccharosestrukturen auf.

Ein teilkristallines Produkt war kein angestrebtes Ziel. Durch eine Reduktion des Saccharoseanteils auf 25 % konnte im dritten Extrusionsversuch eine amorphe Matrix hergestellt werden. Der Massenstrom des Feststoffes wurde konstant bei 3,5 kg/h belassen, die Wasserdosierate auf 300 g/h erhöht und die Zylinder mit 115 °C (2-4), 110 °C (5-6) und 65 °C (7 bis zum Matrize) temperiert. Berechnet wurde ein Wassergehalt im Endprodukt von 11,15 % und eine korrelierende a_w von $\sim 0,6$. Die experimentell ermittelte Wasseraktivität der vermahlenden Probe betrug 0,591 und bestätigt diese Abschätzung. Ein weiterer Extrusionsprozess mit einer niedrigeren Wasserdosierate von 220 g/h (entspricht 9,24 % Wasser im Endprodukt) ist mehrmals durch das Blockieren der Schnecken gescheitert.

Auf Grund des erhöhten Wassergehalts (11,15 % zu 7,88 %) und der gemessenen höheren Produkttemperatur von 75 – 78 °C kam es zu einer erhöhten Expansion. Der Durchmesser der Extrudate stieg von 3,75 mm auf 5,18 mm. Mittels XRD und DSC wurde festgestellt, dass dieses Produkt amorph vorliegt und der kristalline Zustand der Saccharose während des Prozesses durch einen Lösevorgang innerhalb der Matrix überwunden wurde. Auf Grund dieser Ergebnisse kann der Extrusionsprozess weiter optimiert werden, um ein amorphes Produkt mit geringerer Expansion zu erzeugen und um anschließend Carvacrol mittels dieses Prozesses in eine Kohlenhydratmatrix einzubringen und zu stabilisieren.

Fazit:

In den ersten zwei Jahren dieses auf drei Jahre ausgelegten Forschungsprojektes wurde Carvacrol als Modellsubstanz für Aromastoffe und terpenoide niedermolekulare Arzneistoffe ausgesucht und charakterisiert. Diese Substanz zeigt eine hohe chemische Stabilität und besitzt eine geringe Flüchtigkeit. Es wurde auch gezeigt werden, dass Carvacrol mittels Thermo Moulding ohne Mischprozess in amorphem Isomalt stabilisiert werden konnte. Mittels Sprühtrocknung wurden Matrices aus einem Maltodextrin und niedermolekularen Kohlenhydraten hergestellt. Die Glasübergangstemperatur dieser Matrices wurde mittels DSC untersucht. Als kritische Untergrenze für den Extrusionsprozess gilt ein $T_{g_{midpoint}}$ von 25 °C. Dieser kann durch Anpassung des DE-Wertes des Maltodextrins, den Anteil des NMK, vor allem aber durch die Wasseraktivität erzielt werden. Allerdings können die drei Ausgangsstoffe zur Erzielung einer Matrix mit einer $T_{g_{midpoint}}$ oberhalb von 25 °C nicht beliebig kombiniert werden. Zum einen setzt die Rekristallisation von niedermolekularen Kohlenhydraten, vor allem Saccharose, ab einer noch genau zu ermittelnden Konzentration der Auswahl enge Grenzen. Zum anderen spielt der Wassergehalt in Kombination mit der Prozesstemperatur eine wichtige Rolle. Schon +/- 2 % Wassergehalt können einen erfolgreichen Extrusionsprozess verhindern. Dies kann zum einen durch starke Expansion des Produktes und zum anderen durch Unterschreiten des T_g während des Prozesses, dem dadurch bedingten Anstieg der Viskosität, gefolgt von einem Blockieren der Schnecken und Beendigung des Prozesses, passieren.

Ausblick:

Für das dritte Forschungsjahr soll der Extrusionsprozess ohne Aroma weiter untersucht werden, um eine optimale Feststoffmischung zu ermitteln, sowie den Wassergehalt und die Temperaturführung festzulegen. Der Vergleich der Matrices hinsichtlich der Tg aus Sprühtrocknung und Extrusion soll abgeschlossen werden. Auch soll der Einfluss der Länge des Verfahrensraumes und die Schneckendrehzahl in Bezug auf die Matrixeigenschaften untersucht werden. Darauf aufbauend wird der optimierte Extrusionsprozess mit Carvacrol durchgeführt und versucht ein Granulat durch Schneiden des Extrudatstranges am Austritt der Düse durch ein rotierendes Messer zu erhalten. Auch soll herausgefunden werden welche Menge an Carvacrol maximal eingearbeitet werden kann. Zusätzlich muss noch geklärt werden, wie das Carvacrol in der Matrix vorliegt, ob es zu einem Lösen der Carvacrolmoleküle in der Matrix, zu einem Emulgieren oder zu einem Verkapseln von Carvacroltropfen kommt. Denkbar ist auch das Vorliegen aller drei Zustände zu unterschiedlichen Anteilen. Zum Abschluss sollen verschiedene Lagerungsbedingungen zeigen wo die Stabilitätsgrenzen der hergestellten Carvacrolgranulate liegen.

Danksagung:

- **Max Buchner Forschungstiftung**
- AiF Projekt GmbH, Projektträger des BMWi
- Prof. Dr. Peter Kleinebudde, Dr. Markus Thommes und Mitarbeiter, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie, Universitätsstr. 1, 40225 Düsseldorf
- Prof. Dr. Heike P. Schuchmann und Mitarbeiter, Karlsruhe Institut für Technologie (KIT), Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik, Bereich I: Lebensmittelverfahrenstechnik (LVT), Kaiserstr. 12, 76131 Karlsruhe
- Bonifaz Endraß und Ralph Krauß, HB-Feinmechanik GmbH & Co. KG, Finsinger Straße 1, 94526 Metten
- Dr. Olaf Häusler, Roquette Frères, Route de la Gorgue, 62080 Lestrem, Frankreich
- Dr. Karin Gehrich und Oliver Luhn, Südzucker AG, Wormser Str. 11, 67283 Obrigheim/Pfalz
- Andreas Marmann, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Institut für Pharmazeutische Biologie und Biotechnologie, Universitätsstr. 1, 40225 Düsseldorf
- Dr. Florian Dimer, Karlsruhe Institut für Technologie (KIT), Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik, Bereich IV: Molekulare Aufarbeitung von Bioprodukten (MAB), Kaiserstr. 12, 76131 Karlsruhe
- Dr. Esther Mayer-Miebach, Max Rubner-Institut, Institut für Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik, Haid-und-Neu-Str. 9, 76131 Karlsruhe

Veröffentlichungen verschiedener Teilaspekte dieser Arbeit:

- Vortrag bei den Fachausschüssen Agglomerations- und Schüttguttechnik sowie Trocknungstechnik, Hamburg-Harburg, 14.03.2011-15.03.2011: *Untersuchungen zur Verkapselung von Carvacrol in amorphen Matrices mittels Formpressung für Anwendungen im Bereich Life Sciences*
- Posterveröffentlichung beim European Congress of Chemical Engineering/Applied Biotechnology, Berlin 25.09.2011-29.09.2011: *Influence of water activity and matrix composition on the glass transition temperature of amorphous biopolymeric blends produced for the encapsulation of liquid aromas*
- Posterveröffentlichung beim 8th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Istanbul, Turkey, 19.03.2012-22.03.2012: *Investigation of glassy and rubbery spray dried ternary carbohydrate blend compositions*
- Akzeptierte Posterveröffentlichung bei der Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft (DPHG), Greifswald 10.10.2012-12.10.2012: *Identification of factors affecting the sorption isotherms of spray dried binary carbohydrate mixtures containing maltodextrin and sucrose*

Literatur:

- Abiad, M.G., Carvajal, M.T., Campanella, O.H. *A Review on Methods and Theories to Describe the Glass Transition Phenomenon: Applications in Food and Pharmaceutical Products*. *Food Engineering Reviews*, 2009, 1, 105-132
- Bhandari, B.R., Howes, T. *Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods*. *Journal of Food Engineering*, 1999, 40, 71-79
- Cammenga H.K., Figura, L.O., Zielasko, B. *Thermal behaviour of some sugar alcohols*. *Journal of Thermal Analysis*, 1996, 47, 427-434
- Du, W-X., Olsen, C.W., Avena-Bustillos, R.J., McHugh, T.H., Levin, C.E., Friedman, M. *Storage stability and antibacterial activity against Escherichia coli O157:H7 of Carvacrol in edible apple films made by two different casting methods*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2008, 56, 3082-3088
- Figura, L.O. *Lebensmittelphysik – Physikalische Kenngrößen – Messung und Anwendung*. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, 2004
- Gordon, M., Taylor, J. S. *Ideal Copolymers and the 2nd-Order Transitions of Synthetic Rubbers. 1. Non-Crystalline Copolymers*. *Journal of Applied Chemistry*, 1952, 2, 493-500
- Gunning, Y.M., Gunning, P.A., Kemsley, E.K., Parker, R., Ring, S.G., Wilson, R.H., Blake, A. *Factors affecting the release of flavor encapsulated in carbohydrate matrixes*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 1999, 47, 5198-5205
- Hancock, B. C., Zografi, G. *The Relationship between the glass transition temperature and the water content of amorphous pharmaceutical solids*. *Pharmaceutical Research*, 1994, 11 (4), 471-477
- Kilburn, D., Claude, J., Schweizer, T., Alam, A., Ubbink, J. *Carbohydrate polymers in amorphous states: An integrated thermodynamic and nanostructural investigation*. *Biomacromolecules*, 2005, 6 (2), 864-879
- Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M., Mete, E. *Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish Origanum acutidens and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene*. *Bioresource Technology*, 2008, 99, 8788-8795
- Levi, G., Karel, M. *The effect of phase transitions on release of n-Propanol entrapped in carbohydrate glasses*. *Journal of Food Engineering*, 1995, 24, 1-13
- Levine, H., Slade, L. *A polymer physico-chemical approach to the study of commercial starch hydrolysis products (SHPs)*. *Carbohydrate Polymers*, 1986, 6 (3), 213-244

- Palzer, S. *The relation between material properties and supra-molecular structure of water-soluble food solids*. Trends in Food Science & Technology, 2010, 21, 12-25
- Radosta, S., Schierbaum, F., Reuther, F., Anger, H. *Polymer-Water interaction of maltodextrins Part 1: Water vapour sorption and desorption of maltodextrin powders*. Starch / Stärke, 1989, 41 (10), 395-401
- Risch, S.J., Reineccius, G.A. *Flavor Encapsulation*. ACS Symposium Series 370, American Chemical Society, Washington, DC, 1988
- Rong, Y., Sillick, M., Gregson, C.M. *Determination of Dextrose Equivalent Value and Number Average Molecular Weight of Maltodextrin by Osmometry*. Journal of Food Science, 2009, 74(1), C33-C40
- Roos, Y., Karel, M. *Phase Transitions of Mixtures of Amorphous Polysaccharides and Sugars*. Biotechnology Progress, 1991, 7 (1), 49-53 (1991a)
- Roos, Y., Karel, M. *Water and Molecular-Weight Effects on Glass Transitions in Amorphous Carbohydrates and Carbohydrate Solutions*. Journal of Food Science, 1991, 56 (6), 1676-1681 (1991b)
- Roos, Y., Karel, M. *Plasticizing effect of water in thermal behavior and crystallization of amorphous food models*. 1991, Journal of Food Science, 56 (1), 38-43 (1991c)
- Roos, Y. *Melting and glass transitions of low molecular weight carbohydrates*. Carbohydrate Research, 1993, 238, 39-48
- Timmermann, E.O. *Multilayer sorption parameters: BET or GAB values?* Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects, 2003, 220, 235-260
- Ubbink, J., Giardiello, M.-I., Limbach, H.J. *Sorption of Water by Bidisperse Mixtures of Carbohydrates in Glassy and Rubbery States*. Biomacromolecules, 2007, 8, 2862-2873
- Uhlemann, J., Reiß, I. *Produkteigenschaften und Verfahrenstechnik am Beispiel der Aromen*. Chemie Ingenieur Technik, 2009, 81 (4), 393-408