



Abschlussbericht

Wachstumskern WIGRATEC - Verbundprojekt 1

„Entwicklung von Inline- / Online-Messtechnik zur Erfassung und Prozessüberwachung wesentlicher Parameter in Wirbelschichtprozessen sowie von Ausgangs- und Endprodukten“

Teilprojekt 1

„Analytik und Forschung für die Entwicklung von Inline-/Online-Messtechnik“

Zuwendungsempfänger:	Hochschule Anhalt / AG IBAS
Förderkennzeichen:	03WKBQ01A
Laufzeit des Vorhabens:	01.08.2009 – 31.07.2012
Projektleiter:	Prof. Dr. I. Schellenberg
Projektmitarbeiter:	Dorit Franz (Dipl. Oec. troph. (FH))/Dr. J. Kodura Mario Scharmer (M.sc.)

Inhaltsverzeichnis	
Inhaltsverzeichnis	2
Abbildungsverzeichnis	4
Tabellenverzeichnis	7
Symbol-/Abkürzungsverzeichnis	9
I. Kurzdarstellungen	10
1. Aufgabenstellung des Teilvorhabens.....	10
2. Voraussetzungen zur Durchführung des Teilvorhabens.....	11
3. Planung und Ablauf des Teilvorhabens.....	11
4. wissenschaftlicher und technischer Stand vor Projektbeginn	12
4.1 Wissenschaftlich- technischer Wissensstand bei der Messung der Partikelgesamtfeuchte im Bereich von 2- 10%	12
4.2 Wissenschaftlich- technischer Wissensstand bei der Wirkstoffbestimmung in Granulaten.	16
5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen	18
II. Eingehende Darstellung.....	19
1. erzielte Ergebnisse	19
1.1 Granulation und Analytik von Vitamin C (AP 1.1; 2.2;2.4; 2.9).....	19
1.2 Granulation und Analytik von β -Carotin (AP 1.1; 2.2; 2.4; 2.9)	27
1.3 Analytik von Fettsäuren (Fettsäuremethylester) (AP 2.4; 2.8).....	35
1.4 qualitative und quantitative Bestimmung der Matrixmaterialien in den Granulaten (AP 2.9)	35
1.5 Granulation und Analytik von Carvacrol (AP 1.1; 2.2; 2.4)	38
1.6 Granulation und Analytik des Zweiwirkstoffgemisches „Carvacrol- Terpeneol“ (AP 1.1; 2.2; 2.4; 2.8)	46
1.7 Analytik weiterer aromaaktiver Wirkstoffe (AP 2.4; 2.8)	56
1.8 Untersuchungen zur Kalibrierung des kapazitiven Feuchtesensors und des NIR- Sensors (AP 1.4 1.9)	57
1.9 Untersuchungen mit der Labormessstrecke (AP 1.2., 1.3, 1.4)	65
1.10 Bestimmung der Lagerstabilität von Granulaten bzw. Ölen und Fette	68
2. wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises.....	75
3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit.....	75
4. voraussichtlicher Nutzen - Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans	75
5. während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordenen Fortschritts auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen.....	76

6. erfolgte und/oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse.....	76
III. "Kurzfassung" (Berichtsblatt) des wesentlichen fachlichen Inhalts des Schlussberichts	77

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Ergebnis der Siebanalyse des Vitamin C- Granulates „as_10_001“	21
Abbildung 2:	Soll- und Ist- Konzentrationen der Vitamin C- Granulate laut HPLC, diskontinuierliche Versuche	25
Abbildung 3:	Ergebnisse der quantitativen Vitamin C- Bestimmung, kontinuierliche Versuche	25
Abbildung 4:	Ergebnisse der Feuchtemessung der Vitamin C- Granulate	27
Abbildung 5:	granulometrische Ergebnisse ausgewählter β - Carotin- Granulate	30
Abbildung 6:	Kalibriergerade für β - Carotin	30
Abbildung 7:	Ergebnis der HPTLC eines mit LLE extrahierten β - Carotingranulates, entwickelt in einer horizontalen Kammer	33
Abbildung 8:	GC-Chromatogramm für einen Fettsäurestandard und eine fetthaltige Probe (Fettsäuremethylester)	35
Abbildung 9:	entwickelte und derivatisierte HTPLC- Platte mit Matrixmaterialien	36
Abbildung 10:	Ionenchromatogramm von Gummi arabicum	37
Abbildung 11:	Ionenchromatogramm von Maltodextrin	37
Abbildung 12:	Verlauf der Temperaturen und des Volumenstroms während des Granulationsversuches Carva1	39
Abbildung 13:	Verlauf des Produktdruckverlustes und des „Klassierdruckes“ während des Granulationsversuches Carva1	39
Abbildung 14:	Korngrößen der Carvacrolgranulate, Probensortierung in absteigender Carvacrolkonzentration (sortiert nach dem Rezepturwirkstoffgehalt)	40
Abbildung 15:	Ergebnisse der Carvacrol-Granulationsversuche bei der Firma Glatt Ingenieurtechnik GmbH	41
Abbildung 16:	granulometrische Zusammensetzung der bei Glatt Ingenieurtechnik erzeugten Carvacrol-Granulate	41
Abbildung 17:	Abhängigkeit der Wirkstoffwiederfindung von der d_{50} -Granulatgröße bei den Versuchen in der Firma Glatt Ingenieurtechnik GmbH	42
Abbildung 18:	mit der HPLC-Methode ermittelte Wiederfindung des Carvacrols in den hergestellten Granulaten (bezogen auf die Rezepturwerte), Probensortierung in absteigender Carvacrolkonzentration	43
Abbildung 19:	Zusammenhang zwischen Korngröße und Wiederfindung der Carvacrolgranulate	43
Abbildung 20:	Korrelation der Carvacrolgehalte aus der Wasserdampfdestillation und der HPLC-Analyse	44
Abbildung 21:	Granulatfeuchte der Carvacrolgranulate, Probensortierung in absteigender Carvacrolkonzentration	44
Abbildung 22:	Ergebnisse der Feuchtemessung der fraktionierten Carvacrolgranulate	45

Abbildung 23:	Korngrößen der Carvacrol-/ Terpeneolgranulate, absteigend sortiert nach Carvacrolgehalt	47
Abbildung 24:	Zusammenhang zwischen Restschichtmasse und Korngröße	47
Abbildung 25:	HPLC-Ergebnischromatogramm einer mittels SPE extrahierten Carvacrol-/ Terpeneolgranulatlösung	50
Abbildung 26:	mittels HPLC-Analysedaten bestimmte Wiederfindungen (bezogen auf die Rezepturdaten) der Wirkkomponenten Carvacrol und Terpeneol	51
Abbildung 27:	Zusammenhang zwischen Korngröße und Wirkstoffwiederfindung der Carvacrol-/ Terpeneolgranulate	52
Abbildung 28:	Feuchtegehalte der Carvacrol-/ Terpeneolgranulate (absteigend sortiert nach Carvacrolgehalt)	52
Abbildung 29:	Korngrößenergebnisse der Capsicumgranulate	54
Abbildung 30:	Wiederfindung der Wirkkomponenten Capsicumgranulat (Granulatfeuchte wurde in der Bestimmung berücksichtigt)	55
Abbildung 31:	Ergebnisse der Granulatfeuchten der Capsicumgranulate	56
Abbildung 32:	Siebanalyse der Maltodextringranulate	59
Abbildung 33:	Ergebnisse der Feuchtebestimmung von Sokalan CP42	62
Abbildung 34:	Korrelation zwischen den Feuchtegehalte von CP42 mittels Karl- Fischer und Trockenschrankmethode	62
Abbildung 35:	Ergebnisse der Feuchtebestimmung von Sokalan HP56	64
Abbildung 36:	Korrelation zwischen den Feuchtegehalte von HP56 mittels Karl- Fischer und Trockenschrankmethode	64
Abbildung 37:	Labormessstrecke zur Feuchtemessung	66
Abbildung 38:	Ergebnisse der Feuchtemessung der Orangenöl- und Maltodextringranulate vor und nach dem Einsatz in der Labormessstrecke	68
Abbildung 39:	Rancimatdiagramm für Butterschmalz, Schweineschmalz (o.l.; o.r.) und Sonnenblumenöl (u.)	69
Abbildung 40:	ermittelte Induktionszeiten in Abhängigkeit der Lagerzeit eines β - Carotin-Rohstoffes	71
Abbildung 41:	Rancimat-Messergebnis von frischem reinem Sonnenblumenöl	71
Abbildung 42:	Ergebnisse der Rancimat- Methode für den β - Carotin- Rohstoff	72
Abbildung 43:	Rancimat-Messergebnis eines gelagerten β - carotinhaltigen Granulates	72
Abbildung 44:	Ranicmat- Messergebnisse für gelagertes β - carotinhaltiges Granulates (Produktionsdatum 24.09.2010), gelagert in Glasflasche	73
Abbildung 45:	Vergleich zweier gelagerter β - carotinhaltiger Granulate (Messzeitpunkt Juli 2012)	73

Abbildung 46: Rancimat- Kurvenverlauf für Orangenöl (links) und orangenöhlhaltige Granulate (rechts) 74

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Ergebnisse der Validierung der Karl-Fischer-Methode zur Feuchtigkeitsbestimmung unter Verwendung von Standards (n – Anzahl der Messungen) für die Direkt- und Ofenmethode	14
Tabelle 2:	Übersicht zu den Feuchtemessergebnissen	14
Tabelle 3:	Rezepturdaten und Granulationsparameter für die Verkapselung von Vitamin C im diskontinuierlichen WSG-Prozess.....	19
Tabelle 4:	gemessene Parameter während der diskontinuierlichen Granulation von Vitamin C	20
Tabelle 5:	Rezepturdaten und Granulationsparameter für die Verkapselung von Vitamin C im kontinuierlichen Prozess	21
Tabelle 6:	Rezepturen und Granulationsparameter für weiterführende kontinuierliche Granulationsversuche	22
Tabelle 7:	mittlere technologische Parameter während der kontinuierlichen Vitamin C-Granulationsversuche	23
Tabelle 8:	Extraktionsparameter für die ASE von Vitamin C- Granulat	24
Tabelle 9:	Ergebnisse der Feuchtebestimmung der Vitamin C- Granulate aus den diskontinuierlichen Prozessen.....	26
Tabelle 10:	Ergebnisse der Feuchtemessung der im kontinuierlichen WSG-prozess hergestellten Vitamin C- Granulate mittels Karl- Fischer- Titrations.....	26
Tabelle 11:	Rezepturen für die Sprühemulsionen zur Herstellung der β - Carotin- Granulate	28
Tabelle 12:	mittlere Prozessparameter bei der β - Carotin-Wirbelschichtgranulation	29
Tabelle 13:	Parameter der HPLC- Methode für die Analyse von β - Carotin	31
Tabelle 14:	SPE-Aufarbeitungsschritte Schritte von in Wasser gelöstem β - Carotingranulat	34
Tabelle 15:	Ergebnisse der HPLC- Analysen der mit der SPE extrahierten β – Carotingranulate (n=2) 34	
Tabelle 16:	Rezepturen der Sprühemulsionen zur Granulation von Carvacrol	38
Tabelle 17:	Granulationsbedingungen bei der Herstellung von Carvacrolgranulaten.....	38
Tabelle 18:	Rezepturen der Versuche bei der Glatt Ingenieurtechnik GmbH	40
Tabelle 19:	Rezepturen der Sprühemulsionen zur Herstellung der Carvacrol-/ Terpeneolgranulate 46	
Tabelle 20:	HPLC- Parameter der simultanen HPLC- Analytik von Carvacrol und Terpeneol.....	48
Tabelle 21:	Kalibrierfunktion, Nachweis-/ Bestimmungsgrenzen für Carvacrol und α - Terpeneol ..	49
Tabelle 22:	Schritte für die SPE-Trennung von in Wasser aufgelösten Carvacrol/- Terpeneolgranulaten.....	50
Tabelle 23:	HPLC- Analyseergebnisse der mit SPE extrahierten Carvacrol-/ Terpeneolgranulaten .	51
Tabelle 25:	Retentionszeiten von Standardsubstanzen im GC, Trennsäule -> TR- 5MS.....	56

Tabelle 26:	Kalibrierdaten für GC- Analytik von aromaaktiven Komponenten	57
Tabelle 27:	Versuchsplan zur FeuchteEinstellung von Maltodextrin in der Wirbelschicht	57
Tabelle 28:	tatsächliche Granulationsparameter für Maltodextrin granulate zur Feuchtekalibrierung	58
Tabelle 29:	Ergebnisse der Feuchtebestimmung der Maltodextrin granulate nach Karl- Fischer ...	58
Tabelle 30:	Bedingungen zur FeuchteEinstellung und Ergebnisse der Feuchtebestimmung von Sokalan CP42 und HP56	59
Tabelle 31:	Ergebnisse der Feuchtebestimmung von Sokalan CP42	61
Tabelle 32:	Ergebnisse der Feuchtebestimmung von Sokalan HP56	63
Tabelle 33:	Ergebnisse der Feuchtemessungen der Orangenöl granulate mittels Karl- Fischer- Tiration vor und nach den Versuchen in der Labormessstrecke.....	67
Tabelle 34:	Methodenparameter für die Qualitäts-/ Stabilitätsbestimmung von Fetten und Ölen	70
Tabelle 35:	Ergebnisse der Alterungsuntersuchungen mittels der Rancimat- Methode für den β - Carotin- Rohstoff	70

Symbol-/Abkürzungsverzeichnis

Symbol	Einheit	Bedeutung
d_{50}	μm o. mm	Maß für die mittlere Teilchengröße
F	A·s	elektrochemisches Äquivalent
M	g/mol	Molmasse
m	g	Masse
m_P	g	Masse Produkt
m_R	g	Masse Rückstand
m_{Sp}	g/min	Sprührate
m_{SR}	g	Masse Schale inkl. Produkt
n	-	Probenanzahl
p_{Sp}	bar	Sprühdruck
Q	A·s	gemessene Ladungsmenge
rpm	min^{-1}	Umdrehungsfrequenz, Drehzahl
T_{Pr}	°C	Produkttemperatur
\dot{V}	m^3/h	Volumenstrom
$X_{ÖLR}$	%	zu erwartende Ölretention (berechnet)
z	-	Zahl der ausgetauschten Elektronen

Abkürzung	Bedeutung
ASE	beschleunigte Lösungsmittlextraktion (Accelerated Solvent Extraction)
Cn/ SiOH	Copernicium/ Siliciumoxid
d.h.	das heißt
DAD	Dioden- Array- Detektor
F_A	flüchtige Anteil
FID	Flammenionisationsdetektor
GC	Gaschromatographie
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie (High Performance liquid chromatography)
HPTLC	Hochleistungsdünnschichtchromatographie (High Performance Thin Layer Chromatography)
i.d.R.	in der Regel
KS	Klimaschrank
mAU	milli absorbenc unit
Ma-%	Masseprozent
RP	reversed phase (Umkehrphase)
RP- 18	Umkehrphase mit 18- Kohlenwasserstoffen
RP- C18ec	Umkehrphase mit 18 Kohlenwasserstoffen, endcapped
SPE	Festphasenextraktion (Solid Phase Extraction)
TS	Trockenschrank
v	Volumen
WSG	Wirbelschichtgranulator

I. Kurzdarstellungen

1. Aufgabenstellung des Teilvorhabens

Die Herstellung von Produkten auf der Basis der Wirbelschichttechnologie hat in den letzten Jahren deutlich an Bedeutung gewonnen. Gründe dafür sind u.a. die schonende Produktbehandlung, der relativ geringe Energieeinsatz, die Überführung flüssiger Produkte in den festen Zustand, der Schutz oxidationsempfindlicher Substanzen gegen Luftsauerstoff, die Herstellung von Granulaten mit einer oder mehrerer Pflanzen funktioneller Schichten, die schonende Trocknung aromahaltiger Pflanzen und die Möglichkeit einer gezielten Einflussnahme auf die Produktqualität. Für einen effektiven Betrieb solcher Anlagen konnten entscheidende Produktkenngößen (Feuchte, chemische Zusammensetzung, Korngrößenverteilung) bisher nur nach einer Probenahme im Labor bestimmt werden, was eine entsprechende, zum Teil sehr starke Zeitverzögerung in der Bereitstellung der erforderlichen Daten zur Steuerung der Anlagen und damit verbunden unnötige Zusatzkosten sowie Fehlchargen zur Folge hatte. Eine gezielte, schnelle Einflussnahme auf den Prozess selbst ist mit Labordaten ohnehin nicht möglich. Aus diesen genannten Gründen stand im Rahmen des Verbundvorhaben 1 die Aufgabe, entsprechende online/ offline Messtechniken zur Bestimmung der Produktfeuchte und Produktzusammensetzung in Wirbelschichtprozessen zu entwickeln und auf ihre Einsatztauglichkeit zu prüfen. Als Grundprinzipien zur Messwerterfassung waren kapazitive Feuchte-Sensoren und NIR-Messsysteme vorgesehen. Da beide Messprinzipien die gewünschten Größen nur indirekt erfassen, ist zu deren Kalibrierung eine entsprechende Referenzanalytik erforderlich. D.h., es mussten für die jeweiligen Granulate die entsprechenden Analysemethoden modifiziert und validiert sowie die Granulatanalysen durchgeführt werden. Alle mit der Referenzanalytik in Verbindung stehenden Aufgaben wurden im Rahmen dieses Teilvorhabens 1 von der Hochschule Anhalt /Arbeitsgruppe „Institut of Bioanalytical Sciences“ (IBAS) durchgeführt. Neben diesen gehörte auch die Herstellung von entsprechenden, in den einzelnen Parametern variierenden Versuchsgranulaten zu den Aufgaben der Hochschule Anhalt.

Zur Optimierung der Wirbelschichttechnologie bei der Verkapselung funktioneller Inhaltsstoffe für den Einsatz in der Düngemittelindustrie, der kosmetischen und pharmazeutischen Industrie sowie in der Tier- und Humanernährung ist die Erfassung nachfolgender Parameter von Bedeutung:

- die Partikelgesamtfeuchte im Bereich von 2% - 10% ⇒ Arbeitsgebiet 1 und
- der Wirkstoffgehalt im Granulat ⇒ Arbeitsgebiet 2.

Die Aufteilung der Arbeitsaufgaben in die beiden Arbeitsgebiete erfolgte aus Gründen einer besseren Strukturierung des Verbundvorhabens.

Die erforderlichen Untersuchungen zur Bestimmung der Produktfeuchte erfolgten sowohl mit der kapazitiven Messsonde als auch mit dem NIR-Messprinzip. Zur Ermittlung der Wirkstoffkonzentrationen ist von den vorgesehenen Prinzipien nur die NIR-Messung geeignet. Bei diesen Messungen sollten gleichzeitig neben der Wirkstoffkonzentration auch die Produktfeuchte erfasst werden, weil dies für die potentiellen Nutzer von großem Vorteil wäre. In den Granulaten selbst waren gleichzeitig bis zu drei unterschiedliche Wirkkomponenten vorgesehen.

Für die Eignungsuntersuchungen des NIR-Messprinzips in Wirbelschichtanlagen galt es im Rahmen des Vorhabens neben Granulaten mit verkapselten lipophilen Wirksubstanzen auch unter Verwendung hydrophiler Wirksubstanzen hergestellte Partikel zu testen. Zu den Tests des kapazitiven Sensors sind vorrangig in der industriellen Produktion befindliche Produkte zu verwenden.

2. Voraussetzungen zur Durchführung des Teilvorhabens

Der Antragsteller (Hochschule Anhalt) und die Kooperationspartner (IFA GmbH und LLA GmbH) verfügten und verfügen über alle theoretischen und praktischen Voraussetzungen zur qualitativ hochwertigen Durchführung der im Projektantrag geplanten Untersuchungen. Auch alle für die Durchführungen der erforderlichen Arbeiten notwendigen Geräte und Anlagen standen und stehen an der Hochschule Anhalt zur Verfügung. Bei der Bearbeitung des Vorhabens konnte die Hochschule Anhalt auf umfangreiche Erfahrungen auf dem Gebiet der Charakterisierung verschiedenster Wirkstoffe zurückgreifen, was eine entscheidende Voraussetzung für die erfolgreiche Etablierung, Validierung und routinemäßige Durchführung der erforderlichen Analysen zur Bestimmung der Wirkstoffkonzentrationen, Feuchten und der granulometrischen Eigenschaften der Produkte bildete.

Die Aufgabenverteilung und die entsprechenden Beziehungen unter den Projektpartnern wurden im Kooperationsvertrag geregelt. Das Management und die Koordination des Kooperationsvorhabens übernahm die Hochschule Anhalt (FH). Alle Projektpartner brachten ihre fachspezifische Kernkompetenz in das Vorhaben ein. Die Zusammenarbeit sowohl mit den unmittelbaren Projektpartnern als auch mit den übrigen Partnern des Wachstumskerns kann mit sehr gut und konstruktiv eingeschätzt werden.

3. Planung und Ablauf des Teilvorhabens

Die im Antrag des Verbundvorhabens 1 fixierten Arbeitspakete bildeten die Grundlage zur erfolgreichen Bearbeitung des Vorhabens. Die einzelnen Aufgaben wurden in den Hauptschwerpunkten, wie geplant, bearbeitet. In den regelmäßigen gemeinsamen Projektbesprechungen stellten alle beteiligten Partner den erreichten Bearbeitungsstand dar. In den sich anschließenden Diskussionen sind Schlussfolgerungen abgeleitet und die anstehenden neuen Aufgabenstellungen besprochen und koordiniert worden. Im Bedarfsfall erfolgten auch Modifizierungen in den Aufgabenstellungen. Die Besprechungen selbst fanden immer in einer sehr sachlichen, offenen und konstruktiven Atmosphäre statt und trugen wesentlich zur erfolgreichen Bearbeitung des Verbundvorhabens bei.

Die durch IBAS zu lösenden Aufgaben innerhalb des Kooperationsprojektes lassen sich in zwei Arbeitsschwerpunkten zusammenfassen:

- Arbeitsgebiet 1: Entwicklung, Herstellung und Analyse von definierten Versuchsproben für die Bestimmung von Feuchte- und Wirkstoffgehalten, Feuchtetestmessung in einer eigens dafür entwickelten Labormessstrecke.
- Arbeitsgebiet 2: Entwicklung von qualitativen und quantitativen Analysemethoden zur Gehaltbestimmung der in Arbeitsgebiet 1 eingesetzten Wirkstoffe inklusive der Granulatfeuchtebestimmung.

Diese beiden Arbeitsgebiete sind im Rahmen des Vorhabens in den für das Verbundvorhaben entscheidenden Schwerpunkten erfolgreich bearbeitet worden. Die einzelnen erzielten Ergebnisse sind den nachfolgenden Punkten zu entnehmen.

4. wissenschaftlicher und technischer Stand vor Projektbeginn

4.1 Wissenschaftlich- technischer Wissensstand bei der Messung der Partikelgesamtfeuchte im Bereich von 2- 10%

Die Bestimmung der Granulatfeuchte mittels kapazitiver Messmethoden ist prinzipiell eine bewährte und vielfach angewandte Methode. Durch den Kooperationspartner galt es im Rahmen des Vorhabens die Methode auf ihre Tauglichkeit für die Granulate zu untersuchen und diese an die besonderen Bedingungen beim Einsatz in Wirbelschichtgranulationsanlagen inklusive der Findung geeigneter Messstellen an den Wirbelschichtgranulatoren zu modifizieren und zu optimieren.

Als Referenzmethoden zur Bestimmung der Feuchtigkeit in Granulaten kommen prinzipiell in Frage:

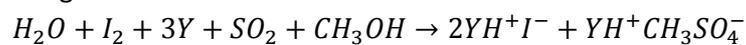
- die Karl-Fischer-Methode
- gravimetrisch- Methoden und
- die Mikrowellenmethode.

Nachfolgend einige grundlegende Bemerkungen zu diesen Methoden:

- Karl-Fischer-Methode¹

Bei der Karl-Fischer-Titration handelt es sich um eine direkte Methode zur Wasserbestimmung, nach der auch international die Referenzwerte bestimmt werden.

Mit dieser Methode ist es möglich, sowohl freies als auch gebundenes Wasser quantitativ zu bestimmen. Grundlage für dieses Verfahren ist, dass Schwefeldioxid und Jod nur unter Anwesenheit von Wasser miteinander reagieren.



Sollte Methanol in der Lösung vorhanden sein, so bildet er mit Schwefeldioxid einen sauren Ester, der mit einer Base (Y - z.B.: Imidazol) neutralisiert wird. Die Titration wird unter Einsatz einer Maßlösung (Jod in Methanol) durchgeführt. Bei dieser Titration wird das Methylsulfat-Anion in Anwesenheit von Wasser durch das Jod zu Methylsulfat oxidiert. Das Jod mit einer goldbraunen Färbung wird zu dem farblosen Jodid reduziert. Dieser Vorgang läuft nur unter Anwesenheit von Wasser ab. D.h., sollte kein Wasser mehr vorhanden sein, kann auch kein zudosiertes Jod mehr reduziert werden. Die Messung dieses Endpunktes erfolgt durch elektrochemische Indikation. Diese Feuchtemessung kann sowohl direkt (Zugabe der zu vermessenden Probe in die Methanollösung) als auch indirekt (thermisches Austreiben des Wassers) erfolgen. Für die direkte Messung ist es aber unerlässlich, dass die Probe in Methanol löslich ist. Bei den produzierten Granulaten ist dies allerdings in der Regel nicht der Fall. Somit müssen diese Proben indirekt bestimmt werden. Dies geschieht über einen separaten Ausheizofen. Die Proben werden dazu in ein Vial überführt und in dem Ofen für eine definierte Zeit temperiert. Das freiwerdende Wasser wird über eine Schlauchleitung in die Messzelle überführt, wo es dann nach obiger Gleichung reagiert. Die Titration selbst erfolgt automatisch.

Eine wichtige Voraussetzung für eine genaue Wasserbestimmung ist das Nichtablaufen von Wasser generierenden oder anderweitig Jod verbrauchenden Nebenreaktionen. Sollte dies dennoch der Fall sein, so kann es zu großen Fehlern in den Messergebnissen kommen. Die Anwesenheit folgender Stoffe führt zu den oben genannten Nebenreaktionen:

- Karbonate, Hydroxide und Oxide
- Aldehyde und Ketone

¹ Bruttel, P.; Schlink, R.; Wasserbestimmung durch Karl- Fischer- Titration, Metrohm AG, S. 9

- Starke Säuren
- Silanole/ Siloxane
- Borverbindungen
- Metallperoxide
- Reduktionsmittel
- (starkes) Oxidationsmittel (z.B.: Diakylperoxide, Diacylperoxide, elementares Chlor, Chromate)

Die Karl-Fischer-Titration kann prinzipiell nach zwei Prinzipien erfolgen, volumetrisch oder coulometrisch.

- coulometrische Karl-Fischer-Titration²

Im Gegensatz zur Volumetrie wird bei der Coulometrie der elektrische Strom zur Reagenzherzeugung genutzt. So wird durch den Strom aus dem iodhaltigen Reagenz durch Elektrolyse die stöchiometrisch entsprechende Menge Jod freigesetzt.

Dabei gelten die Faradayschen Gesetze:

$$m = \frac{M \cdot Q}{z \cdot F}$$

mit:

m -> Masse des umgesetzten Stoffes in g

M -> molare Masse in g/mol

Q -> gemessene Ladungsmenge in Ampèrsekunden

z -> Zahl der ausgetauschten Elektronen (Äquivalenzahl, Ladungszahl)

F -> elektrochemischen Äquivalent, 1 F = 96.485 Coulomb/mol (1 Coulomb = 1C = 1 Ampèrsekunde = 1 A s)

Voraussetzungen für die coulometrische Titration sind:

- Der Prozess muss mit 100%- iger Stromausbeute ablaufen.
- Es dürfen keine Nebenreaktionen auftreten.
- Die Oxidation oder Reduktion muss zu einer definierten Oxidationsstufe führen.

Die ablaufenden chemischen Reaktionen sind aber die gleichen, wie die bei der nachfolgend beschriebenen Volumetrie.

Die coulometrische Wasserbestimmung wird vor allem für die Bestimmung kleiner Wassermengen eingesetzt. KF-Coulometer arbeiten in einem Bestimmungsbereich von 10 µg -200 mg Wasser.

- volumetrische Karl-Fischer-Titration

Die volumetrische Karl-Fischer - Titration wird bevorzugt bei höheren Produktfeuchten eingesetzt (Bei entsprechender Probenmenge und Verwendung verdünnter KF-Reagenzien liegt der untere Bestimmungsbereich bei etwa 50.-.100 ppm Wasser). Die Titration selbst kann nach direkter Zugabe einer möglichst genau abgemessenen Menge an feuchter Substanz erfolgen, wenn die Ausgangssubstanzen in Methanol löslich sind.

² Bruttel, P.; Schlink, R.; Wasserbestimmung durch Karl- Fischer- Titration, Metrohm AG, S. 9

Zur Bestimmung der Feuchtigkeit von Substanzen, die in Methanol unlöslich sind, kann man die sogenannte Ofenmethode nutzen. Letztere ist prinzipiell auch für die methanollöslichen Produkte einsetzbar.

Bei der Volumetrie wird wie oben beschrieben, die Feuchtebestimmung durch definierte Zugabe einer iodidhaltigen Maßlösung ermittelt.

Im Rahmen des Vorhabens kam zur Bestimmung der Feuchtegehalte der Granulate die volumetrische Karl-Fischer-Titration zur Anwendung.

Zur Validierung der Methode und zur Ermittlung der Methodengenauigkeit wurden im Vorfeld zu den eigentlichen Feuchtebestimmungen der hergestellten Granulate Untersuchungen unter Verwendung von Standards durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind der nachfolgende Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1: Ergebnisse der Validierung der Karl-Fischer-Methode zur Feuchtigkeitsbestimmung unter Verwendung von Standards (n – Anzahl der Messungen) für die Direkt- und Ofenmethode

		Direktmethode Standard = 1,0%	Ofenmethode Standard = 5,0%
MW der Wassergehalte n = 10]	Ma%	0,976	5,035
Standardabweichung	Ma%	0,0247	0,0424
Variationskoeffizient	%	2,531	0,8415
Wiederfindung	%	97,61	98,91

Die Untersuchungen einzelner Substanzproben führten zu nachfolgend aufgeführten Ergebnissen (Tabelle 2) hinsichtlich der erzielbaren Genauigkeit.

Tabelle 2: Übersicht zu den Feuchtemessergebnissen

Stoff/Stoffgruppe	Ofen- temperatur [°C]	Konz.- bereich* [%]	Feuchte- bereich [%]	Standardabweichung Bereich
Maltodextrin	140	rein	1,64 - 8,34	0,006 - 0,239
Ascorbinsäure ¹⁾	110	rein	0,18	0,042
Ascorbinsäure in Maltodextrin	110	10 - 40	2,25 - 4,30	0,297 - 0,796
Ascorbinsäure in Maltodextrin +HiCap 100	110	5 - 20	5,54 – 6,15	0,031 – 0,172
β-Carotin in Öl und Maltodextrin +HiCap 100	140	1	6,34 - 6,52	0,129 - 0,153

* - Konz. im Granulat gemäß Rezeptur

¹⁾ mit Sartorius-Feuchtebestimmer (MA50) gemessen

Die einzelnen Proben selbst wurden in einem Wirbelschichtgranulator sowohl im Batch- als auch im kontinuierlichen Betrieb hergestellt. In den Batchversuchen erfolgte neben der Herstellung von Proben für die Feuchtemessung auch eine Voroptimierung der Prozessparameter für die kontinuierlichen Versuche.

- *gravimetrisch- Methoden*

Bei den gravimetrischen Methoden bestimmt man den Feuchtegehalt durch Messung der Gewichts-differenz, die nach einer entsprechenden thermischen Belastung der Probe entsteht. Als apparative Methoden wären hier die Trockenschrankmethode und die auf dem Markt verfügbaren Halogen-Feuchtigkeitsmessgeräte und Infrarot-Feuchtigkeitsmessgeräte zu nennen. Beide Geräte sind leicht bedienbar und liefern, wie auch die Trockenschrankmethode, in der Regel bei sachgemäßer Versuchsdurchführung gut reproduzierbare Ergebnisse. Der große Nachteil dieser Methoden besteht jedoch darin, dass andere, im Granulat vorhandene flüchtige Substanzen ebenfalls mit ausgetrieben und damit als Feuchtigkeit gewertet werden. Dieser Effekt kann zu erheblichen Messfehlern führen. Weitere, zum Teil erhebliche Messfehler können bei diesen Methoden entstehen, wenn die Partikel groß sind und damit der Transport der Feuchtigkeit von innen nach außen zeitaufwendig ist oder wenn eine recht stabile Bindung der Feuchte an den Grundkörper besteht. Wenn man diese Fehler akzeptieren kann, ist dies eine einfache, preiswerte und schnell zu realisierende Möglichkeit zur Feuchtebestimmung. Bei hohen Anforderungen an die Messgenauigkeit sind sie nur in Ausnahmefällen bei genauer Kenntnis der Stoffeigenschaften der zu untersuchenden Substanz geeignet.

- *Mikrowellenmethode*^{3,4}

Die Mikrowellen- Feuchtemeßverfahren sind indirekte Messverfahren und basieren auf der Tatsache, dass der dielektrische Effekt des Wassers sehr stark ausgeprägt ist. Die relative Dielektrizitätskonstante (DK) von Wasser beträgt ca. 80, und die der meisten Feststoffe ist wesentlich kleiner. Sie liegt in der Regel im Bereich von 2.- 10, vorzugsweise zwischen 3 und 6. Der Mikrowellenmeßeffect wird verursacht durch den Unterschied zwischen der DK von Wasser und der der Feststoffe.

Bei dem Messverfahren werden Mikrowellen durch eine geeignete Wellenführung in das Produkt gebracht. Sie durchdringen das Produkt und werden abhängig von der Dielektrizitätskonstanten des feuchten Produktes verändert. Anschließend erfolgt die Detektion der verändert Mikrowellen. Aufgrund der Veränderungen ergeben sich Phasenverschiebungen und Dämpfungen der eingestrahlten Wellen. Neben der Produktmessung wird auch immer eine Referenzmessung durchgeführt und diese dann mit der Produktmessung verglichen. Durch die Änderungen in den Phasen und der Dämpfung kann dann auf den Feststoffgehalt und somit auch auf den Feuchtegehalt geschlossen werden. Um Basiswerte für diese Messungen zu erhalten, ist es immer notwendig, einen Systemabgleich durchzuführen. Im Anschluss muss noch eine Kalibrierung des Mikrowellensensors auf das jeweilige Produkt erfolgen. Der Detektionsbereich dieser Methode liegt in Abhängigkeit der Produkteigenschaften zwischen 0,1 und 15%.

Für den Einsatz in industriellen Anlagen zur kontinuierlichen Messwerterfassung sind, außer der Mikrowellenmethode, die oben aufgeführten Methoden nicht geeignet. Sie können jedoch prinzipiell unter Beachtung der Genauigkeitsanforderungen als Referenzmethoden genutzt werden. Bei der

³ Schweinforth, R.; Kulte, U.; Mikrowellenmessverfahren bei der Schlammentwässerung, Sonderdruck aus KA- Wasserwirtschaft, Abwasser, Abfall, 49. Jahrgang, Heft 11/2002, Seite 1525 – 1528

⁴ Kupfer, K.: Feuchtemessung an Zuschlagstoffen für die Betonherstellung unter Verwendung der Mikrowellenmesstechnik. Dissertation (A), HAB Weimar, 1990

Mikrowellenfeuchtemessung ist die Genauigkeit abhängig von der Schüttdichte/ Materialdicke. Leichte Schwankungen lassen sich kompensieren, starke nicht. Mikrowellenmessverfahren müssen wie auch NIR-Verfahren kalibriert werden. Im Gegensatz zu den Mikrowellenverfahren können aus den NIR-Messsignalen gleichzeitig noch weitere wichtige Größen (z.B. Konzentrationen von Inhaltsstoffen) bestimmt werden. Auch preislich sind die Mikrowellenmessgeräte den NIR-Systemen nicht überlegen.

4.2 Wissenschaftlich- technischer Wissensstand bei der Wirkstoffbestimmung in Granulaten

Die Kenntnis der Wirkstoffgehalte in den Granulaten spielt sowohl für die Produktqualität als auch für die optimale Steuerung des Granulierprozesses eine entscheidende Bedeutung. Da in vielen technischen Anwendungsfällen die zu verkapselnden Wirkstoffe selbst thermisch flüchtig sind, spielt die Prozessführung im Wirbelschichtgranulator (WSG) eine entscheidende Rolle. Bei niedrigen Prozesstemperaturen ist zwar der Wirksubstanzverlust ebenfalls geringer, aber gleichzeitig sinkt auch die Produktivität der Anlage, was eine Erhöhung des Herstellungspreises zur Folge hat, und die Prozessstabilität nimmt, vor allem bei sehr niedrigen Temperaturen deutlich ab. Aus diesem Grund muss für gute Herstellungsbedingungen ein Optimum zwischen thermischer Produktbelastung und Herstellungskosten gefunden werden. Da es bei der Wirbelschichtgranulation eine Vielzahl von Einflussgrößen gibt, die zum Teil durch den Betreiber nicht oder nur mit extremen Aufwendungen eingestellt werden könnten, ist eine optimale Fahrweise nur unter Einbeziehung entsprechender (online) Messtechnik möglich.

Die dafür benötigte Messtechnik ist auf dem Markt nicht anwendungsspezifisch sofort verfügbar. Spektrometrische, auch online Messverfahren sind zwar auf dem Markt erhältlich, sie müssen aber immer an die konkreten Bedingungen was sowohl den Messort als auch die Signalauswertung (chemometrische Auswertungsmodelle) betrifft angepasst, optimiert und in der Regel kalibriert werden. Für diese Arbeiten werden möglichst genaue Referenzanalysedaten benötigt. Zu deren Bestimmung können z.B. folgende Methoden zum Einsatz kommen:

- **Gaschromatografie (GC)** gekoppelt mit unterschiedlichen Detektoren

Bei dieser Methode werden die gasförmigen oder unzerstört verdampfenden Analyten mittels einer gasförmigen mobilen Phase (z.B. Helium) durch eine gewickelt gebogene, kapillarartige Röhre (Trennsäule) geleitet, die sich in einem temperierbaren Ofen befindet. Die Trennsäule ist überwiegend aus Quarzglas, das zur Erhöhung der Bruchsicherheit beschichtet ist. Sie ist innen mit einer definierten stationären Phase ausgekleidet (häufig mit zähflüssigen Polyorganosiloxanen). Die Analyten besitzen je nach Polarität und Dampfdruck der einzelnen Gasmoleküle unterschiedlich starke Wechselwirkungen mit der stationären Phase und werden mit dem Trägergas durch die Kapillare zum Detektor transportiert. So ergeben sich unterschiedliche Durchlaufzeiten (Retentionszeiten) der Probenkomponenten durch die Säule. Die Analyten können nach Verlassen der Trennsäule mit verschiedenen Detektoren gemessen werden. Zu den im Projekt genutzten Detektoren gehören der Flammenionisationsdetektor (FID) sowie ein Massenspektrometer (MS). Das Funktionsprinzip des FID's ist die Messung der Leitfähigkeit zwischen zwei Elektroden (das Brenngas ist Wasserstoff). Die zu analysierenden Substanzen werden mit einem Trägergasstrom in die Flamme transportiert und dort thermisch ionisiert. Die bei der Ionisierung freiwerdenden Elektronen werden aufgefangen (mittels eines Gitters, das um die Flamme angebracht ist) und durch einen angeschlossenen Schreiber oder ein anderes Datenerfassungssystem als Peak aufgezeichnet.

- **Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)**

Wie bei der GC handelt sich auch bei der HPLC um eine Trennmethode zum Separieren von Analyten in einer Probe. Der Unterschied zwischen der GC und der HPLC besteht insbesondere in der mobilen Phase. Im Gegensatz zur GC werden in der HPLC flüssige Eluenten verwendet und kein Gas. Die stationären Phasen sind feste Materialien in einer Edelstahlröhre und können unterschiedlich zusammengesetzt sein. Die Trennsäulen in der HPLC haben einen wesentlich größeren Durchmesser als in der GC. Allerdings sind die Trennsäulen der GC erheblich länger (bis zu 30m) im Vergleich zur HPLC (meist 12,5 – 30cm). Auch bei dieser Analysenmethode ist die Verwendung verschiedenster Detektoren möglich. Zum Einsatz kam im Rahmen des Vorhabens ein Dioden-Array-Detektor (DAD) sowie ein Massenspektrometer. Die Funktionen des DAD basiert auf der Lichtabsorption der Analyten. Die Stärke der Absorption ist dabei abhängig von der Konzentration des Analyten in der untersuchten Probe. Für die Analysen können für die jeweiligen Substanzen die optimale Wellenlänge eingestellt werden, bei denen sie das meiste Licht absorbieren (λ_{\max}) und somit charakteristisch für diese Verbindung Signale erfasst werden können.

- **Dünnschichtchromatographie (HPTLC)**

Die Auftrennung der zu untersuchenden Proben basiert auch hier auf den Wechselwirkungen/ Bindungskräften der Analyten mit der stationären und der mobilen Phase. Als stationäre Phase fungiert hier eine Glas- bzw. Aluminiumplatte, deren Oberfläche mit entsprechenden Sorbenzien beschichtet wurde. Im Gegensatz zu den vorherigen Methoden wird die Probe hier vor Beginn der Analyse mittels einer Spritze auf die HPTLC- Platte aufgetragen. Die so vorbereitete Platte wird anschließend in eine Entwicklungskammer gestellt, die mit einem Lösungsmittelgemisch gefüllt ist. Das Lösungsmittelgemisch und die Analyten werden durch die in der aufgetragenen Schicht vorhandenen Kapillarkräfte nach oben gezogen. Je nach Stärke der Wechselwirkungen zwischen Analyt sowie stationärer und mobiler Phase wandern die Analyten unterschiedlich schnell. So entstehen für die einzelnen Analyten Banden, welche dann über externe Scanner gemessen werden können. Dabei ist auch eine Quantifizierung der Substanzen möglich (Densitometrie). Anders als bei der HPLC und der GC erfolgen hier alle Schritte separat nacheinander. Durch die Entwicklung der Platte bei Normaldruck in der Entwicklungskammer sind z.T. lange Analysenzeiten erforderlich.

- **Solid- Phase- Extraktion (SPE)**

Die Solid- Phase- Extraktion stellt eine Probenvorbereitungsmethode dar, die in ihrer physikalischen Grundlage sehr stark der HPLC ähnelt. Die Probe wird auf eine mit einem speziellen Extraktionssorbens gefüllte Kartusche (nach Konditionierung des Sorbens) aufgegeben. Das Extraktionssorbens kann aus unterschiedlichen Materialien bestehen (z. B.: Kieselgel, Copernicium, verschiedene Polymermaterialien). Die Analyten und die Störstoffe binden je nach Stärke der Wechselwirkungen unterschiedlich stark an dem Sorbens. Das für die gewünschte Fragestellung bzw. Analytstoffklasse am besten geeignete Sorbens muss in entsprechenden Vorversuchen bestimmt werden.

Nach dem Probenauftrag werden mittels eines Waschschruttes die Störstoffe von der Kartusche entfernt. Anschließend erfolgt unter Verwendung eines geeigneten Lösungsmittels die Elution der Zielanalyten, die nachfolgend mittels HPLC quantitativ bestimmt werden können.

- **Wasserdampfdestillation** – Bestimmung des ätherischen Ölgehaltes

Die Wasserdampfdestillation ist eine Methode zur Abtrennung ätherischer Öle aus einer Probe. Hierbei wird eine definierte Probe in eine entsprechende Menge Wasser gegeben und zum Kochen gebracht. Der entstehende Dampf nimmt gemäß der Gleichgewichtsbedingungen entsprechende Mengen an ätherischem Öl mit. Nach der Kondensation des Wasserdampf-Öl-Gemisches trennt sich das Öl in einer nachgeschalteten Bürette vom Wasser ab. Das überschüssige Wasser wird in den Vorlagekolben zurückgeführt. Am Ende des Prozesses wird die erhaltene Menge an ätherischem Öl an der Bürette abgelesen.

Das Verfahren der Wasserdampfdestillation ist ein DIN- Verfahren und rechtlich anerkannt. Die Durchführung dieser Methode erfolgte nach der DAB bzw. DIN EN ISO 6571:2009-11 (als Ersatz für die DIN 10228- 1995- 12).

Eine generell einsetzbare Analysenmethode für alle im Rahmen des Vorhabens zu untersuchenden Proben ist nicht möglich, da sich die Eigenschaften der jeweiligen Substanzen sich zu stark unterscheiden. Es musste für jeden Analyten bzw. jedes Analytengemisch eine entsprechende Methode entwickelt und validiert werden. Eine Übertragung von Kalibrierdaten von einem Analysesystem auf ein anderes System setzt eine nochmalige Überprüfung dieser voraus. Aus diesem Grund gilt es bei einem Gerätewechsel oder dem Austausch von signifikanten Geräteteilen immer die Analysengenauigkeit zu überprüfen und im Bedarfsfall die Kalibrierung und ggf. auch die Validierung zu wiederholen.

Derzeit existiert keine gesicherte Inline- / Online- Messmethode für die Wirkstoffbestimmung in Produkten, die in Wirbelschichtprozessen hergestellt werden. Da eine solche Methode zur Prozessoptimierung und zur Prozesssteuerung dringend benötigt werden, soll im Rahmen des Vorhabens die Methode der NIR- Reflexionsspektroskopie (Derivativspektroskopie) auf ihre grundsätzliche Eignung im vorgesehenen Einsatzgebiet untersucht werden.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Zur Lösung der Aufgabenstellungen war keine Zusammenarbeit mit anderen, nicht zum Wachstumskern gehörenden Stellen erforderlich.

II. Eingehende Darstellung

1. erzielte Ergebnisse

In den nachfolgenden Unterpunkten werden die, an der Hochschule Anhalt erzielten, Ergebnisse für die unterschiedlichen untersuchten Wirksubstanzen dargestellt. Für die wichtigsten Kenndaten und Stoffeigenschaften der im Rahmen des Vorhabenzeitraums zu untersuchenden Stoffe (AP 2.1) ist eine Datenbank entwickelt und aufgebaut worden.

Aus Gründen einer besseren Übersichtlichkeit sind die Ergebnisse nach Substanzen bzw. Schwerpunkten geordnet. Die dazugehörigen Arbeitspakete sind in den jeweiligen Teilüberschriften angegeben.

1.1 Granulation und Analytik von Vitamin C (AP 1.1; 2.2;2.4; 2.9)

Granulationsergebnisse

Für die Verkapselung von Vitamin C existierten keine Rezepturen für die Sprühlösungen und keine Erfahrungen zum Verhalten im WSG, auch nicht in der Literatur. Aus diesem Grund war es erforderlich, in diskontinuierlichen Versuchen die Möglichkeiten und Grenzen des Stoffsystems zu untersuchen und brauchbare Rezepturen der Sprühlösung zu erhalten. Der Versuchsplan für die Batch-Versuche, die zum Teil mehrfach durchgeführt werden mussten, ist der Tabelle 3 zu entnehmen.

Tabelle 3: Rezepturdaten und Granulationsparameter für die Verkapselung von Vitamin C im diskontinuierlichen WSG-Prozess

		Batch-Versuche			
Rezepturkomponenten	Einheit	as_10_001	as_20_001	as_30_001	as_40_001
Wasser	Ma%	50	50	50	50
Maltodextrin	Ma%	45	40	35	30
Vitamin C	Ma%	5	10	15	20
Granulationsparameter					
Produkttemperatur	°C	60	60	60	50
Sprührate	g/min	20	20	20	7
Sprühdruck	bar	3	3	3	3

Die während der diskontinuierlichen Versuche tatsächlich realisierten Einstellungsparameter können der Tabelle 4 entnommen werden.

Tabelle 4: gemessene Parameter während der diskontinuierlichen Granulation von Vitamin C

Kenngröße	Einheit	Batch-Versuche			
		as_10_001	as_20_001	as_30_001	as_40_001
durchschnittl. Produkttemperatur	°C	62	62	67	47
durchschnittl. Sprüh-rate	g/min	21	18	13	14
Sprühdruck	bar	3	3	3	3

Die Versuchsdurchführung erfolgte in den nachfolgend aufgeführten Schritten:

- Auflösung der entsprechenden Menge Vitamin C in Wasser
- Zugabe des Maltodextrins zur Lösung

Die Lösung wurde so lange intensiv gerührt, bis sie homogen war. Der WSG muss vor dem eigentlichen Versuchsbeginn ca. eine halbe Stunde bei den vorgesehenen Parametern (Luft Eintrittstemperatur, Luftdurchsatz) betrieben werden. Der Versuch selbst begann mit dem Einsaugen von feinkörnigem festem Maltodextrin (Vorlage) in den Wirbelschichtgranulator. Nach dem sich die gesamte Vorlage (in der Regel 300 g) im WSG befand, wurde die Peristaltikpumpe zum Einsprühen der Maltodextrin-Vitamin C-Lösung in Betrieb genommen und auf den gewünschten Durchsatz eingestellt. Während des Versuches selbst mussten die Betriebsparameter so variiert werden, dass sich im Apparat ein stabiles Wirbelbett einstellt. Der reguläre Versuchsabbruch erfolgte beim Erreichen der angestrebten Zielparameter (z.B. Versuchszeit oder Granulatmenge).

Versuchsergebnisse

Bei den Versuchen „as_10_001“ und „as_20_001“ konnte ein relativ stabiles Bett erzeugt werden. Bei dem Versuch „as_20_001“ verfestigte sich jedoch das Granulate, nach der Entnahme aus der Anlage, in der Lagerflasche. Bei den Versuchen „as_30_001“ und „as_40_001“ ließen sich keine stabilen Prozessbedingungen einstellen. Schon kurz nach dem Einsprühen der Lösung bildeten sich Ablagerungen an der Granulatorwand. Auch eine Nachregulierung der Sprührate und die Erhöhung des Luftvolumenstroms brachten keine Prozessstabilisierung. Bei Versuch „as_40_001“ verfestigte sich das Granulat nach Prozessende im WSG. Die entnommenen Granulate wiesen rein optisch schon eine große Inhomogenität in der Korngrößenverteilung auf. Zur Untermauerung dieser Feststellung wurde das im Versuch „as_10_001“ erzeugte Granulat einer Siebanalyse unterzogen (siehe Abbildung 1).

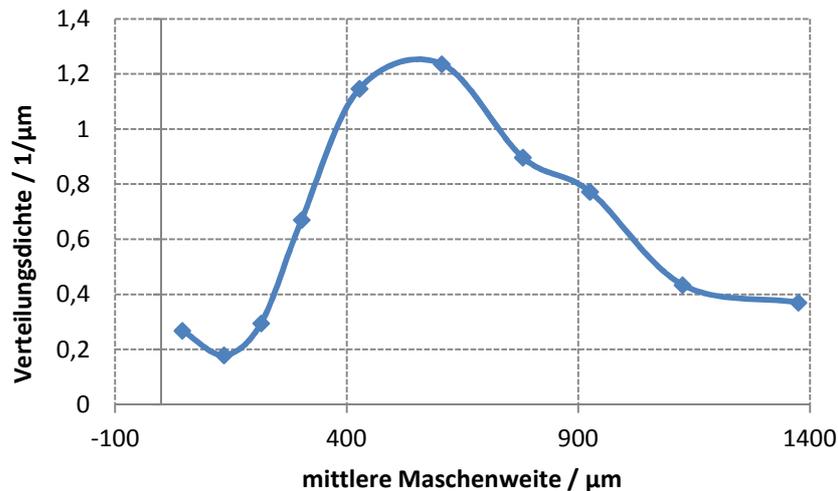


Abbildung 1: Ergebnis der Siebanalyse des Vitamin C- Granulates „as_10_001“

Eine solche breite Korngrößenverteilung wäre für eine weitere Verarbeitung ungeeignet.

Aufbauend auf den Ergebnissen der Batch-Versuche erfolgte die Planung für die kontinuierlichen Granulationsversuche (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Rezepturdaten und Granulationsparameter für die Verkapselung von Vitamin C im kontinuierlichen Prozess

		kontinuierliche Versuche				
Rezepturkomponenten (Ma- %)	Einheit	as_10_002	as_20_002	as_30_002	as_40_002	as_40_003
Wasser	Ma%	50	50	50	50	50
Maltodextrin	Ma%	45	26,13	17,50	15	15
HiCap100	Ma%	0	13,87	17,50	15	15
Vitamin C	Ma%	5	10	15	20	20
Granulationsparameter						
Produkttemperatur	°C	50	55	65	60	55
Sprührate	g/min	15- 20	20	11	15	11
Sprühdruck	bar	3	4	4	3	3

Da beim kontinuierlichen Versuch „as_10_002“ ein analog schlechtes Granulationsverhalten wie bei den Batch-Versuchen zu beobachten war, wurden für die nachfolgenden Versuche Veränderungen in der Zusammensetzung der Matrixmaterialien vorgenommen (siehe Tabelle 5). Durch diese Rezepturmodifizierungen sollte eine stabile Prozessführung gewährleistet werden.

Zusätzlich zur den Rezepturveränderungen kam es bei den kontinuierlichen Versuchen zu einer besseren der Steuerung des Prozesses und zur Vereinheitlichung der mittleren Produktgröße. Innerhalb des Versuches kam ein Zick-Zack-Sichter am Granulataustritt aus dem WSG zum Einsatz. In Abhängigkeit vom Luftdurchsatz durch den Sichter, der über den Luftvordruck regelbar ist, kann man in bestimmten Grenzen die Partikelaustragsgröße regeln. Als Richtgröße hat sich folgender Erfahrungswert herauskristallisiert:

0,1 bar Sichterdruck $\hat{=}$ ca. 100µm Partikelgröße

Die Granulationsanlage ist auf einen Sichterdruck von 2,0 bar limitiert. Somit ist ein kontrollierter Austrag nur bis maximal 2mm Partikelgröße möglich.

Der Versuch „as_20_002“ neigte zum Versuchsbeginn zur Instabilität. Durch eine Senkung der Sprüh-rate und einer Erhöhung der Produkttemperatur sowie das Anpassen des Luftvolumenstromes ließ sich der Prozess stabilisieren. Mit diesem Versuch gelang es dann auch erstmalig, ein rieselfähiges Vitamin C- Granulat über den Sichter zu entnehmen, was sich bei Lagerung im Auffangbehälter aller-dings wieder verfestigte. Durch eine mechanische Einwirkung auf das Granulat konnte dies jedoch wieder gelockert und rieselfähig gemacht werden, ohne dass es grobe Agglomerate aufwies. Daher können für dieses Granulat auch aussagekräftige Aussagen zum Feuchtegehalt und Wirkstoffgehalt getroffen werden. Der Ascorbinsäuregehalt dieses Versuchs betrug bei einem Wassergehalt von 5,91 % nur ca. 11,34 % statt den laut Rezeptur zu erwartenden 20 %.

Der Versuch „as_30_002“ war trotz ständiger Veränderungen der Prozessparameter während des Versuches nicht zu stabilisieren und musste nach ca. einer Stunde Versuchszeit abgebrochen werden. Das in dieser Zeit erzeugte Granulat (ca. 500 g) verhärteten im Lagerbehälter so stark, dass es durch mechanische Zerstörung nicht mehr rieselfähig gemacht werden konnte. Da die Analyse eines sol-chen Granulates nicht aussagekräftig gewesen wäre, wurde darauf verzichtet.

Auch bei den Granulationsversuchen „as_40_002“ und „as_40_003“ gab es erhebliche Schwierigkei-ten bei der Prozessführung. Aufgrund der instabilen Prozesse war es nicht möglich, ein für die analy-tischen Untersuchungen geeignetes Granulat zu produzieren.

Anhand der bisher beschriebenen Versuchsergebnisse wurde bei den weiteren Versuchen die Sprüh-lösungskonzentration auf max. 10% Vitamin C beschränkt. Die realisierten Rezepturen und Parameter im WSG können der Tabelle 6 entnommen werden.

Tabelle 6: Rezepturen und Granulationsparameter für weiterführende kontinuierliche Granulationsversuche

		kontinuierliche Versuche			
Rezepturkomponenten	Einheit	as_ko_5_001	as_ko_10_001	as_ko_15_001	as_ko_20_001
Wasser	Ma %	50	50	50	50
Maltodextrin	Ma %	31,5	30	28,5	26,5
HiCap	Ma %	16	15	14	13,5
Ascorbinsäure	Ma %	2,5	5	7,5	10
Granulationsparameter					
Produkttemperatur	°C	60	60	60	60
Sprührate	g/min	15- 20	15- 20	15- 20	15- 20
Sprühdruck	bar	3	3	3	3

Alle Versuche in der oben aufgeführten Tabelle konnten über den geplanten Versuchszeitraum von vier Stunden durchgeführt werden. Die tatsächlich realisierten technologischen Parameter sind in der Tabelle 7 aufgeführt. Hierbei handelt es sich um die über den Versuchszeitraum gemittelten Werte.

Tabelle 7: mittlere technologische Parameter während der kontinuierlichen Vitamin C-Granulationsversuche

		kontinuierliche Versuche			
KenngroÙe	Einheit	as_5_ko_001	as_10_ko_001	as_15_ko_001	as_ko_20_001
Prod.- Temp	°C	60,5	60,3	60,3	60,0
Sprühdruck	bar	3	3	3	3
Sprührate	g/min	14,3	15,9	16,4	15,2

Aufgrund des relativ starken Granulatwachstums musste der Sichterdruck regelmäßig erhöht werden, um den Feststoffaustrag dem Feststoffeintrag anzupassen. Ohne diese Eingriffe wäre keine akzeptable Prozessstabilität erzielt worden. Bei den Versuchen „as_ko_5_001“ und „as_ko_15_001“ waren die Granulationsbedingungen sehr stabil. Begünstigt wurde dieser Aspekt durch den höheren Luftstrom, der für die Fluidisation der Partikel in der Wirbelschicht verantwortlich ist. Einzig beim Versuch „as_ko_20_001“ zeigten sich geringfügige Ablagerungen an den Granulatorwänden. Das bei diesem Versuch produzierte Granulat neigt dazu, im Lagerbehälter zu verklumpen. Die Verklumpungen konnte aber durch Schütteln gelöst werden. Aufgrund der stabilen Prozesse und der entnommenen Produktmengen konnten alle Granulate analytisch charakterisiert werden.

Analytische Charakterisierung der Granulate

- Wirkstoffkonzentration

Für die Bewertung der Granulationsversuche ist neben den granulometrischen Kenngrößen (mittlere Korngröße, Breite der Korngrößenverteilung) vor allem auch die Kenntnis der Vitamin C –Konzentration in den Granulaten von entscheidender Bedeutung. Zu deren qualitativen und quantitativen Bestimmung wurden im Rahmen des Vorhabens eine HPLC-(High Performance Liquid Chromatography) Methode aufgebaut und validiert. Die Methodenentwicklung schließt hierbei die extraktive Probenvorbereitung, in vorliegendem Fall mit Hilfe der ASE (Accelerated Solvent Extraction), mit ein. Diese Probenvorbereitung wurde gewählt, um mögliche, im Granulat vorhandene Verunreinigungen zu entfernen und diesen Prozess für spätere Routineanalysen einfach zu automatisieren.

Versuchsablauf ASE:

- Einwiegen der erforderlichen Menge an Granulat (i.d.R. 2,5g).
- Versetzen der Einwaage mit Diatomeenerde (i.d.R. 2.0g) und Befüllen der Extraktionszelle für die ASE mit der Mischung. Die Diatomeenerde dient hierbei als Füllstoff.
- Durchführung der Extraktion mittels Wasser nach einem vorgegebenen Temperatur-Zeit-Programm (Tabelle 8) aufgeführt ist.

Tabelle 8: Extraktionsparameter für die ASE von Vitamin C- Granulat

Parameter	Einheit	Einstellungen
Volumen der Extraktionszelle	ml	11
Vorheizen der Zelle	min	1
Heizen der Zelle	min	5
statische Extraktionsbedingungen	min	5
Extraktionsvolumen	% des Zellenvolumens	100
Spülvorgang	s	100
Zyklen	---	3
Druck	bar	100
Temperatur	°C	70
Lösungsmittel	%	100% Wasser

Nach Abschluss der automatisierten Extraktion werden die Extrakte auf ein definiertes Volumen aufgefüllt, um eine quantitative Rückrechnung der HPLC-Ergebnisse zu ermöglichen.

Basis der quantitativen Bestimmung bildet eine 10- Punkt- Kalibrierung der verwendeten HPLC-Anlage (Agilent 1100 Series) in einem Konzentrationsbereich von 15- 180µg/ml mit einem Injektionsvolumen von jeweils 10 µl. Die ermittelte Kalibrierfunktion lautet:

$$y = 53,484647 \cdot x - 311,3994$$

mit y – Peakfläche im Chromatogramm in mAU·min

x – Wirkstoffkonzentration in µg/ml

und einem Bestimmtheitsmaß von 0,9987.

Die Anwendungsgrenzen der Funktion/Methode sind:

- Nachweisgrenze: 9,78 µg/ml
- Bestimmungsgrenze: 32,05 µg/ml

Mit dieser erfolgreich validierten Methode wurden die nachfolgend aufgeführten Analysenergebnisse erhalten.

In Abbildung 2 sind die Analysenergebnisse der Batch-Granulate dargestellt.

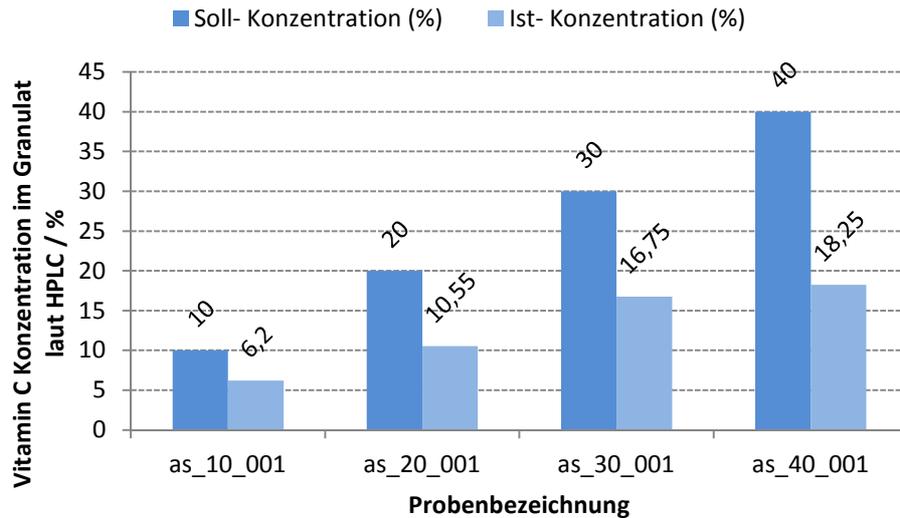


Abbildung 2: Soll- und Ist- Konzentrationen der Vitamin C- Granulate laut HPLC, diskontinuierliche Versuche
 (Sollkonzentration = Vitamin C – Konz. im Granulat laut Sprühlösungsrezeptur)

Die geringen Wirkstoffwiederfindungen in den Granulaten können hier auf die Versuchsbedingungen zurückgeführt werden. Beim Start des Granulationsprozesses wird Maltodextrin als Keimmaterial vorgelegt, um den Granulationsprozess schneller stabilisieren zu können. Bei den diskontinuierlichen Prozessen verbleiben die Granulate mit dem Maltodextrinkern im Wirbelbett und mischen sich mit denen, die während des Granulationsprozesses neu gebildet werden und keinen Maltodextrinkern mehr enthalten. Somit liegen unterschiedliche Granulattypen nebeneinander vor, was Konsequenzen auf die Probenahme und die Analyseergebnisse hinsichtlich des Vitamin C-Gehaltes hat. Bei den kontinuierlichen Versuchen sind bei entsprechend langer Versuchsdauer diese Fehler weitestgehend ausgeschlossen. Die Ergebnisse der Analysen der kontinuierlichen Versuche sind der Abbildung 3 zu entnehmen.

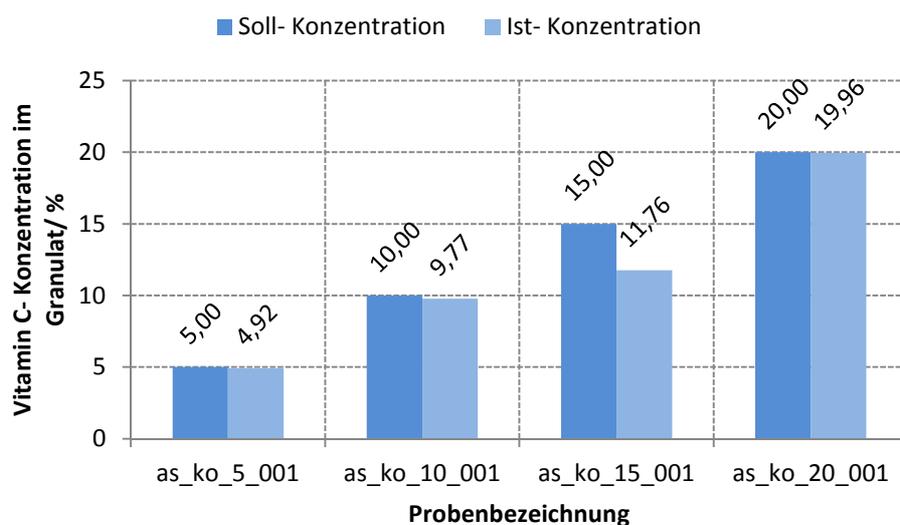


Abbildung 3: Ergebnisse der quantitativen Vitamin C- Bestimmung, kontinuierliche Versuche
 (Sollkonzentration = Vitamin C – Konz. im Granulat laut Sprühlösungsrezeptur)

Die Ergebnisse in der obigen Abbildung verdeutlichen sehr anschaulich, dass während des Granulationsprozesses nur sehr geringe Mengen an Vitamin C verloren gegangen sind. Eine Ausnahme bildet der Versuch „as_ko_10_001“. Der hier gefundene Verlust ist nicht erklärbar. Im Rahmen dieser Untersuchungen wird dieser Versuch als Ausreißer gewertet.

- **Feuchtebestimmung bei den Vitamin C- Granulate**

Die Bestimmung der Granulatfeuchte erfolgte bei diesem Produkt ausschließlich mittels der Karl-Fischer- Titration unter Verwendung eines Ausheizofens. Die mit der Karl- Fischer Titration ermittelten Granulatfeuchten bei den im Batch-Verfahren hergestellten Granulaten sind der Tabelle 9 zu entnehmen.

Tabelle 9: Ergebnisse der Feuchtebestimmung der Vitamin C- Granulate aus den diskontinuierlichen Prozessen

Kenngröße	Einheit	Batch-Versuche			
		as_10_001	as_20_001	as_30_001	as_40_001
durchschnittl. Wassergehalt (Anzahl der Messungen: n= 5; 6)	Ma%	3,7	2,9	2,3	4,3
Standardabweichung (n= 5; 6)	Ma%	0,3	0,3	0,6	0,5
Variationskoeffizient	%	8,0	11,0	27,0	12,7

Die starken Streuungen der Wassergehalte lassen sich auf die Instabilitäten in der Prozessführung zurückführen. Durch die sehr breite Korngrößenverteilung und im Zusammenhang mit den Problemen bei der Prozessführung können solche Unterschiede in den Wassergehalten in den Granulatproben entstehen. Auch Inhomogenitäten in den erhaltenen Granulaten führen zu solchen recht großen Variationskoeffizienten. Da für die Bestimmung selbst nur sehr kleine Mengen (ca. 0,2 g) benötigt werden, können Granulatfeuchteinhomogenitäten im Haufwerk die Messergebnisse durchaus sehr stark beeinflussen und zu entsprechend großen Streuungen bei Wiederholungsmessungen führen.

Die ermittelten Feuchtegehalte der in den kontinuierlichen Prozessen erzeugten Vitamin C-Granulate sind der Tabelle 10 bzw. der Abbildung 4 zu entnehmen.

Tabelle 10: Ergebnisse der Feuchtemessung der im kontinuierlichen WSG-prozess hergestellten Vitamin C- Granulate mittels Karl- Fischer- Tritration

Kenngröße	Einheit	kontinuierliche Versuche			
		as_5_ko_001	as_10_ko_001	as_15_ko_001	as_ko_20_001
durchschnittl. Wassergehalt (n=3)	Ma%	5,8	5,8	5,5	6,2
Standardabweichung	Ma%	0,03	0,04	0,17	0,07
Variationskoeffizient	%	0,5	0,6	3,1	1,1

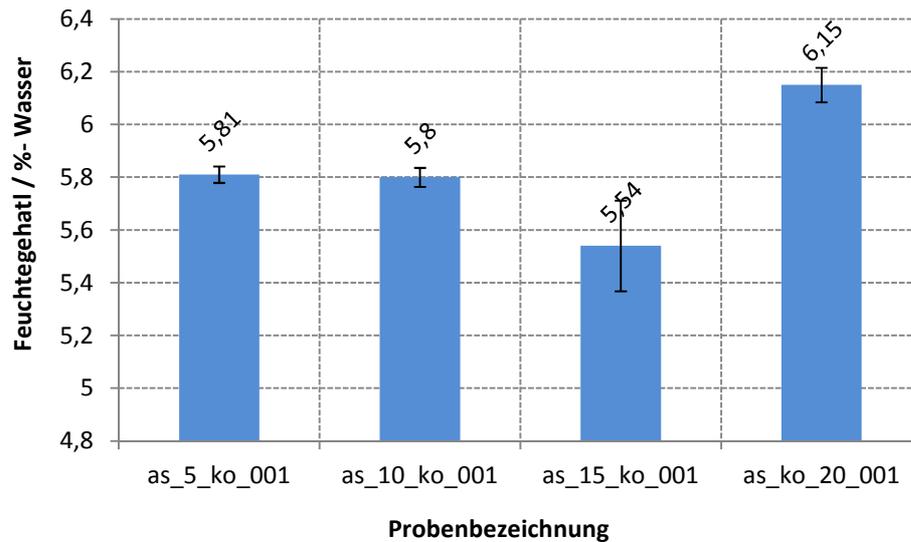


Abbildung 4: Ergebnisse der Feuchtemessung der Vitamin C- Granulate

Die vor diesen Messungen durchgeführten Voruntersuchungen zur Ermittlung der Granulatfeuchte haben gezeigt, dass die besten Resultate mit den geringsten Streuungen erzielt werden, wenn die Granulate nach der Herstellung mindestens 48 Stunden in einem luftdicht verschlossenen Gefäß mit wenig Luftüberstand lagern. Bei der Lagerung kommt es zu einem diffusionsbedingten Ausgleich der Feuchte in und unter den Granulaten. Damit werden durch Produktinhomogenitäten bezogen auf die Produktfeuchte hervorgerufene Probenahmefehler weitestgehend reduziert. Die bei den Analysen erhaltenen Variationskoeffizienten verdeutlichen die Notwendigkeit dieses Zwischenschrittes. Die ermittelten Feuchteunterschiede lassen sich damit weitestgehend auf die technologischen Bedingungen im Granulator zurückführen. Die sehr ähnlichen technologischen Parameter während der unterschiedlichen kontinuierlichen Versuche rechtfertigen die geringen Feuchteunterschiede.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Granulation von Vitamin C im Granulatkonzentrationsbereich von 5- 20% erfolgreich realisiert wurde. Für die Wirkstoffbestimmung in den Granulaten wurde eine geeignete Probenvorbereitungs- sowie eine Analysenmethoden entwickelt und validiert. Die für die Verkapselung von Vitamin C gesetzten Ziele sind damit in vollem Umfang erreicht worden.

1.2 Granulation und Analytik von β -Carotin (AP 1.1; 2.2; 2.4; 2.9)

Granulationsergebnisse

Als zu verkapselnder Ausgangswirkstoff für die Granulation kam ein Gemisch aus 30% β - Carotin und 70% Sonnenblumenöl zum Einsatz. Zur Einstellung des prozentualen β - Carotin- Gehaltes in der Emulsion wurde der Rohstoff mit weiterem Sonnenblumenöl verdünnt. Die Rezepturen für die Versuche sind der Tabelle 11 zu entnehmen.

Tabelle 11: Rezepturen für die Sprühemulsionen zur Herstellung der β - Carotin- Granulate

Komponenten		Versuche						
		diskontinuierliche Versuche		kontinuierliche Versuche				
		<i>b_caro _batch _1</i>	<i>b_caro _batch _2</i>	<i>b_caro _konti _1</i>	<i>b_caro _konti _2</i>	<i>b_caro _konti _3</i>	<i>b_caro _konti _4</i>	<i>b_caro _konti _5</i>
Wasser	g	500	500	2000	2400	2400	2400	2400
Maltodextrin	g	200	400	900	691,2	691,2	691,2	691,2
HiCap	g	100	50	900	640	640	640	640
Ölgemisch mit β - Carotin (Sonnenblumenöl + β - Carotin- Rohstoff)	g	200	50	200	268,8	268,8	268,8	268,8
Masse Zugabe Sonnenblumenöl	g	193,33	48,33	193,33	259,84	241,92	215,04	188,16
Masse β - Carotin- Rohstoff	g	6,67	1,67	6,67	8,96	26,88	53,76	80,64
β - Carotinanteil im Öl	%	1,0	1,0	1,0	1,0	3,0	6,0	9,0
β - Carotinanteil im Granulat	%	0,4	0,1	0,1	0,17	0,5	1,01	1,51

Zur Herstellung der Sprühemulsion wurden die Rezepturkomponenten in folgender Reihenfolge vermischt:

1. Wasser + Maltodextrin
2. HiCap 100 zu 1.
3. β -Carotin-Öl zu 2.

Anschließend erfolgte eine Homogenisierung mittels Ultra- Turrax (10.000 U/min, 5Min). Dies sollte sicherstellen, dass die Emulsionstropfen klein ($<10\mu\text{m}$) und gut verteilt in der Emulsion vorliegen. Feine Emulsionstropfen sind eine entscheidende Voraussetzung für eine gute und möglichst verlustarme Granulation.

Die während der Versuche realisierten Prozessparameter sind in der Tabelle 12 zusammengestellt.

Tabelle 12: mittlere Prozessparameter bei der β - Carotin-Wirbelschichtgranulation

		Versuche						
		Diskontinuierliche Versuche		kontinuierliche Versuche				
		<i>b_caro</i> <i>_batch</i> <i>_1</i>	<i>b_caro</i> <i>_batch</i> <i>_2</i>	<i>b_caro</i> <i>_konti</i> <i>_1</i>	<i>b_caro</i> <i>_konti</i> <i>_2</i>	<i>b_caro</i> <i>_konti</i> <i>_3</i>	<i>b_caro</i> <i>_konti</i> <i>_4</i>	<i>b_caro</i> <i>_konti</i> <i>_5</i>
Parameter	Einheit							
Produkttemp.	°C	60,8	60,5	60,6	60,8	79,8	70,2	70,0
Sprühdruck	bar	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Sprührate	g/min	18,0	14,1	15,7	14,8	12,1	11,7	12,4

Versuchsverlauf

Der Verlauf der Versuchsdurchführung gestaltete sich sehr unterschiedlich. Der Versuch „*b_carotin_konti_2*“ sollte ursprünglich bei einer Produkttemperatur von 50°C durchgeführt werden. Da sich das Wirbelbett bei dieser Temperatur allerdings durch nicht genügend neue Granulationskeimbildung entleerte, musste der Versuch mit diesen Einstellungsparametern abgebrochen und mit höherer Produkttemperatur (60°C) fortgeführt werden. Aber auch bei der höheren Temperatur war der Prozess sehr instabil und musste vorzeitig abgebrochen werden. Die bis dahin entstandenen Granulate waren sehr stark agglomeriert.

Bei dem Versuch „*b_carotin_konti_3*“ musste der erste Lauf abgebrochen werden, da auch hier sich das Wirbelbett entleerte. Im zweiten Lauf kam es zu einer starken Produktion von Feinmaterial. Dieses feine Material verstopfte den Austrag zum Sieb, so dass eine Produktentnahme nicht möglich war.

Bei den Versuchen „*b_carotin_konti_4*“ und „*b_carotin_konti_5*“ waren die gleichen Effekte wie bei Versuch „*b_carotin_konti_3*“ zu verzeichnen. Der Sieb neigte zu Verstopfungen, die bei diesen Versuchen jedoch durch entsprechende Eingriffe in den Versuchsablauf wieder beseitigt werden konnten. Ohne Berücksichtigung dieser Siebverstopfungsproblematik kann jedoch eingeschätzt werden, dass diese Versuche stabil verliefen und bis zum geplanten Ende durchgeführt werden konnten.

Die Abbildung 5 zeigt die Ergebnisse der Korngrößenbestimmung ausgewählter β - Carotin- Granulate. Die Granulate 3 und 5 weisen eine sehr ähnliche d_{50} -Korngröße auf. Dies beruht darauf, dass die Sprühraten bei diesen Versuchen annähernd gleich groß waren. Bei einer Erhöhung der Sprührate (Versuch 2) steigen die Partikelgrößen bei diesem „Stoffsystem“ an, bei einer kleineren Sprührate (Versuch 4) verringert sich die mittlere Korngröße.

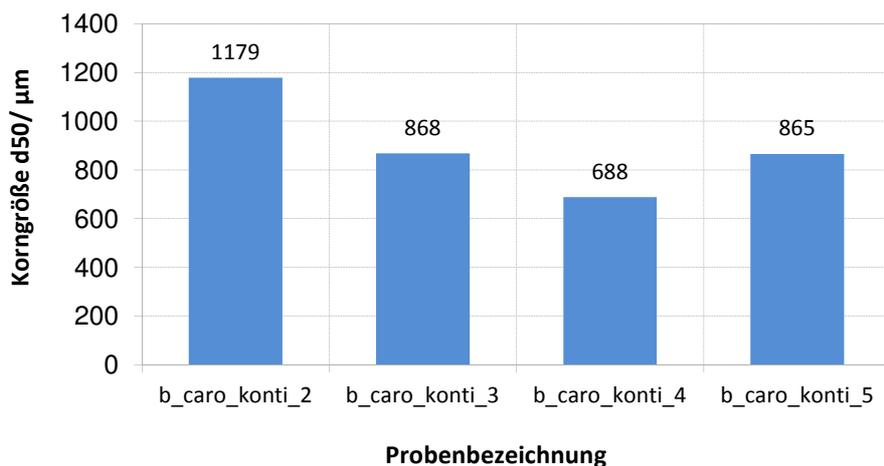


Abbildung 5: granulometrische Ergebnisse ausgewählter β - Carotin- Granulate

Analytische Charakterisierung der Granulate

- Wirkstoffkonzentration

Für die Bestimmung der β - Carotin-Konzentration in den Granulaten wurde eine HPLC- Methode unter Verwendung eines DAD (Dioden Array Detector) entwickelt. Die Kalibrierfunktion (Abbildung 6) und die Analysengrenzwerte wurden an der ausgewählten Anlage (Agilent 110 Series) unter Verwendung von hochreinen Standardsubstanzen ermittelt.

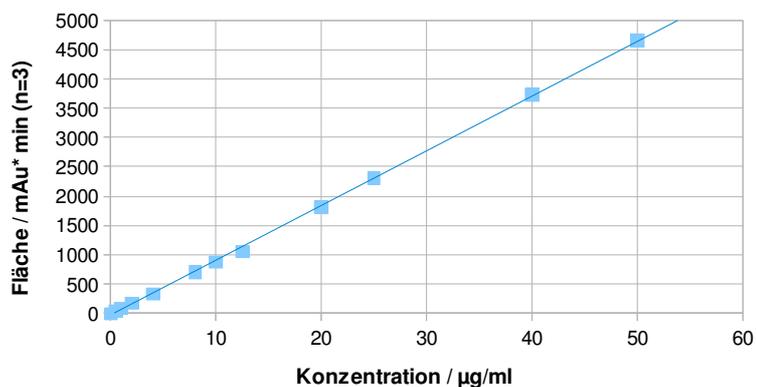


Abbildung 6: Kalibriergerade für β - Carotin

Im Einzelnen sind folgende Ergebnisse erzielt worden:

Kalibrierfunktion: $y = 93,52605 \cdot x - 31,875480$

(y – Peakfläche im Chromatogramm in [mAU·min]
 x – β -Carotin-Konzentration in der Lsg. in [$\mu\text{g/ml}$])

Nachweisgrenze:	0,41µg/ml
Bestimmungsgrenze:	1,49µg/ml
Bestimmtheitsmaß:	0,99982
Retentionszeit:	ca. 4,5 Minuten

Die entscheidenden Parameter für diese Methode sind in der Tabelle 13 zusammengestellt.

Tabelle 13: Parameter der HPLC- Methode für die Analyse von β - Carotin

Parameter	Einheit	Einstellungen
Lösungsmittel		Aceton, Toluol (80:20 – v:v)
Trennsäule		ReproSil- Pur C18-AQ, 125x4mm, 5µm (Dr. Maisch GmbH, Art-Nr.: r15.aq.s1204) Vorsäule: ReproSil- Pur C18- AQ, 5x4 mm; 5µm (Dr. Maisch GmbH, Art-Nr.: R15.AQ.V0004)
Eluent		Methanol, Aceton, 1-Propanol (60:20:20 – v:v:v) (isokratische Trennung)
Flussrate	ml/min	1,4
Temperatur	°C	25 (Säulenofen)
Injektionsvolumen	µl	20
Detektor		DAD
Wellenlänge	nm	450
Analysezeit	min	10

Die Vorbereitung der Granulatproben stellte zu Beginn der Methodenentwicklung ein großes Problem dar. Die Granulate selbst sind wasserlöslich und das in den Granulaten enthaltene β -Carotin-Ölgemisch liegt nach dem Auflösen in Form von kleinen Tröpfchen in der Lösung vor. Für eine Gehaltsbestimmung mittels der HPLC-Methode muss das β -Carotin aber in einer homogenen hydrophoben Phase (z.B. gelöst in einem organischen Lösungsmittel) vorliegen. Aus diesem Grund sollte die bei der Auflösung der Granulate entstandene Emulsion wieder „aufgebrochen“ und in die beiden Phasen (hydrophil – lipophil) getrennt werden. Dazu wurden entsprechende Untersuchungen in folgender Reihenfolge durchgeführt:

- Zerstörung der Emulsion mittels Zentrifugalkräften

Bei diesen Untersuchungen konnte auch bei höheren Drehzahlen keine Auftrennung der Emulsion in die beiden Phasen erreicht werden. D.h., der eingesetzte Ausgangsstoff HiCap ist ein sehr guter Emulgator, was für die Herstellung der Granulations- (Sprüh-)lösung von entscheidender Bedeutung ist.

Für die Probenvorbereitung zur analytischen Bestimmung der β -Carotin-Gehalte mittels HPLC ist diese Möglichkeit aber damit nicht geeignet.

- Einsatz von Deemulgatoren

Als Deemulgatoren kamen verschiedene Produkte der Firmen *Separ Chemie GmbH*, *Kurita Europe GmbH* sowie *New Environmental Technology GmbH* zum Einsatz. Insgesamt sind 8 verschiedene Produkte in unterschiedlichen Konzentrationen und Mengen bezüglich ihrer Eignung als Deemulgator für das vorliegende Stoffsystem getestet worden. Im Ergebnis der Untersu-

chungen musste festgestellt werden, dass sich keines der Produkte für die Aufspaltung der Emulsion eignet. Die eingesetzten Deemulgatoren führten zu keiner zufriedenstellenden Aufspaltung der Emulsion in die beiden benötigten Phasen.

- Einsatz von Enzymen

Durch die Zugabe der Enzyme besteht die Möglichkeit, die als Emulgator eingesetzte Wachsmaisstärke zu Zucker abzubauen und damit die Emulsion zu zerstören.

Zum Einsatz kam eine α -Amylase. Die Untersuchungen selbst erfolgten mit verschiedenen Enzymkonzentrationen und bei unterschiedlichen Temperaturen.

Als Ergebnis dieser Experimente konnte festgestellt werden, dass:

1. die Emulsion durch das Enzym zerstört werden konnte,
2. die für die Emulsionszerstörung benötigte Zeit von 7 Tage für eine nachfolgende Bestimmung des β -Carotin – Gehaltes mittels HPLC aber deutlich zu hoch ist.

Somit ist keine dieser untersuchten Methoden für die Probenaufarbeitung geeignet.

- Hochleistungsdünnschichtchromatographie (HPTLC)

Um die umfangreiche Probenvorbereitung ggf. zu vereinfachen, ist alternativ die Hochleistungsdünnschichtchromatographie als Analysenmethode untersucht worden. Dabei kamen unterschiedliche Dünnschichtplatten (Körnung, Polarität) sowie verschiedene Entwicklungskammern (vertikal, horizontal) und unterschiedliche Eluenten bzw. Elutentengemische zum Einsatz. Die besten Ergebnisse unter Verwendung eines β -Carotinstandards wurden bei folgenden Parametern erzielt:

- Lösungsmittel: Wasser,
- Eluent: Hexan : Isopropanol (9:1 – v:v),
- Dünnschichtplattentyp: Kieselgel 60,
- horizontale Entwicklungskammer.

Bei der Untersuchung der gelösten Granulatproben zeigte sich jedoch, dass die Matrixmaterialien einen starken negativen Einfluss bezüglich der Trennung auf der HPTLC-Platte ausüben. Aus diesem Grund musste im Vorfeld zwingend eine Probenvorbereitung erfolgen, in der das β -Carotin (lipophile Phase) von den Matrixmaterialien abgetrennt wird.

- flüssig-flüssig-Extraktion

Erste Versuche zur flüssig- flüssig- Extraktion (LLE) wurden mit in Wasser aufgelöstem β -Carotingranulat durchgeführt. Nach dem Ausschütteln mit entsprechenden Lösungsmittelmengen (Lösungsmittel: n- Hexan; Phasenverhältnis Lösungsmittel : Probenlösung: 1:2,5; Anzahl der Ausschüttelungen einer Probe: 3) erfolgte die Analyse des so gewonnenen Extraktes mittels HPTLC (Ergebnis siehe Abbildung 7). Die dargestellte Platte zeigt, dass das β - Carotin von den Matrixsubstanzen abgetrennt werden konnte und dass keine störenden Komponenten der Matrix mehr vorhanden sind. Die deutlich sichtbaren Banden sind die des β - Carotins. Der Grund für den auf der Platte sichtbaren „smiley“-Effekt konnte trotz umfangreicher Untersuchungen weder eindeutig geklärt noch beseitigt werden.

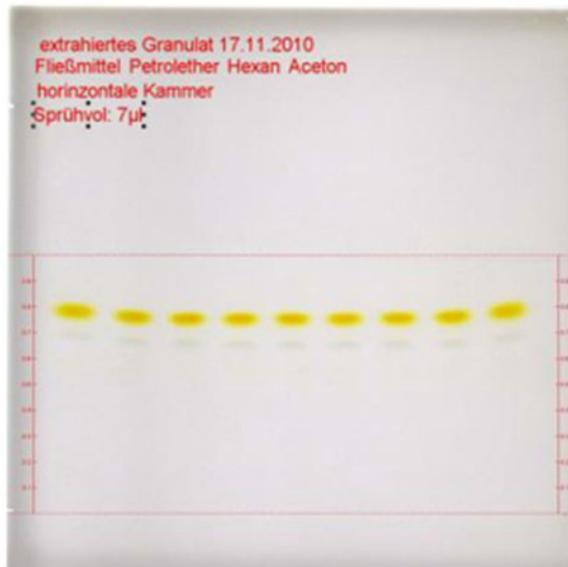


Abbildung 7: Ergebnis der HPTLC eines mit LLE extrahierten β - Carotin-granulates, entwickelt in einer horizontalen Kammer

Unter Einbeziehung der LLE-Methode wäre damit die HPTLC-Analytik prinzipiell zur Gehaltsbestimmung geeignet. Allerdings wies die wässrige Phase nach der letzten Extraktion immer noch eine gelbliche Färbung auf, was auf einen Restcarotingehalt hindeutete. Weiterhin nachteilig ist der hohe Zeitaufwand für das Ausschütteln bei der LLE zu bewerten. Aus diesen Gründen wurden weitere Extraktionsmethoden zur Probenvorbereitung untersucht.

- Accelerated Solvent Extraction (ASE)

Die durchgeführten Untersuchungen mit der ASE ergaben, dass eine möglichst vollständige Abtrennung auch bei unterschiedlichen Temperaturen, Drücken sowie bei Verwendung von stark unpolaren Lösungsmitteln nicht möglich war. Damit ist auch diese Methode für die Probenvorbereitung ungeeignet.

- Solid Phase Extraction (SPE)

In den ersten SPE-Experimenten ist ermittelt worden, welches SPE- Material (stationäre Phase) für die Extraktion des Analyten am besten geeignet ist. Bei den Untersuchungen kamen folgende Kartuschen-/ Kartuschenfüllmaterialien zum Einsatz:

- C18 (Firma: Macherey- Nagel)
- C18ec (Firma: Macherey- Nagel)
- C18f (Firma: Macherey- Nagel)
- Cn/ SiOH (Firma: Macherey- Nagel)

Die Auswertung der Versuche ergab, dass ein unpolares Standardadsorbens (RP- C18) in Kombination mit einem Eluentengemisch aus Aceton und Toluol (8:2; v:v) sehr gut für diesen Extraktionsschritt verwendbar sind.

In der nachfolgenden Tabelle 14 sind die erforderlichen Schritte für die β -Carotin-SPE-Extraktion aus der durch Granulatauflösung entstandenen Emulsion dargestellt.

Tabelle 14: SPE-Aufarbeitungsschritte Schritte von in Wasser gelöstem β - Carotingranulat

Schritt	Lösungsmittel	Volumen des Lösungsmittels/Gases
Konditionieren der Extraktionskartusche	Methanol	2,5 ml
Konditionieren der Extraktionskartusche	Wasser	2,5 ml
Probenauftragung	gelöstes Granulat	1,2 ml
Entfernen der Störkomponenten	Wasser	2,5 ml
Trocknen der Extraktionskartusche	Stickstoff	Spülen für 30 s.
Elution	Aceton/ Toluol 8:2 (v/v)	2x 2,5 ml
Trocknen der Extraktionskartusche	Luft	2,5 ml
Homogenisierung: Schütteln des Eluats für 30 s bei 750 min⁻¹ in der SPE		

Die SPE der Granulatlösung kann sowohl manuell als auch automatisch erfolgen. In beiden Fällen bleibt der Ablauf aus der Tabelle 14 gleich. Die manuelle Durchführung eignet sich sehr gut für die Methodenentwicklung. Die zu analysierenden Proben wurden nach der manuellen Methodenentwicklung mit einer automatischen SPE- Anlage der Firma *Gerstel GmbH* extrahiert, woraus sich folgende Vorteile ergaben:

- gleiche Behandlung aller Proben und Kartuschen,
- kleine Toträume durch spezielle Kartuschenkonstruktion,
- hohe Reproduzierbarkeit,
- nahezu vollständiges Trocknen der Kartuschen vor und nach der Extraktion möglich,
- Proben und Extrakte können immer gekühlt werden,
- positiver Druck statt Vakuum -> verbesserte Wirkstoffretention

Die Dauer für die Extraktion einer Granulatprobe liegt bei ca. 10 Minuten. Da die HPLC- Methode bereits im Vorfeld zu den SPE-versuchen entwickelt worden war, wurde die Analytik mittels HPTLC nicht weiter verfolgt und die Analyse der Proben mittels ersterer Methode unter Verwendung der SPE durchgeführt. Die unten aufgeführte Tabelle zeigt die Ergebnisse der HPLC- Analysen der, mit unterschiedlichen Wirkstoffkonzentrationen hergestellten, β - Carotingranulate. Alle Proben wurden vor der HPLC- Analyse mit der automatischen SPE aufgearbeitet.

Tabelle 15: Ergebnisse der HPLC- Analysen der mit der SPE extrahierten β – Carotingranulate (n=2)

β -Carotinhalt lt. Rezeptur	Versuchsbezeichnung	β -Carotinhalt berechnet $\mu\text{g/ml}$	β -Carotinhalt laut HPLC $\mu\text{g/ml}$	Standarabw. Messwerte	Wiederfindung %
1,5%	b_caro_konti_5	3,75	3,74	0,027	99,65
1,0%	b_caro_konti_4	2,50	2,53	0,062	101,15
0,5%	b_caro_konti_3	2,50	2,33	0,003	93,01

Die Entwicklung und Validierung der qualitativen und quantitativen Bestimmungsmethode für β -Carotin in den hergestellten Granulaten konnte somit erfolgreich abgeschlossen werden.

1.3 Analytik von Fettsäuren (Fettsäuremethylester) (AP 2.4; 2.8)

Zur Bestimmung von Fettsäuren wurde eine Methode für die Gaschromatographie (GC) etabliert. Diese Bestimmungsmethode basiert auf dem Vergleich der Verhältnisse der prozentualen Flächenanteile der jeweiligen Fettsäurepeaks (Area- %) zu dem Anteil der gesamten Fettsäuren. Die Abbildung 8 zeigt beispielhaft ein Chromatogramm mit einem Fettsäurestandard (Fettsäuremethylester) und einer fettsäurehaltigen Probe.

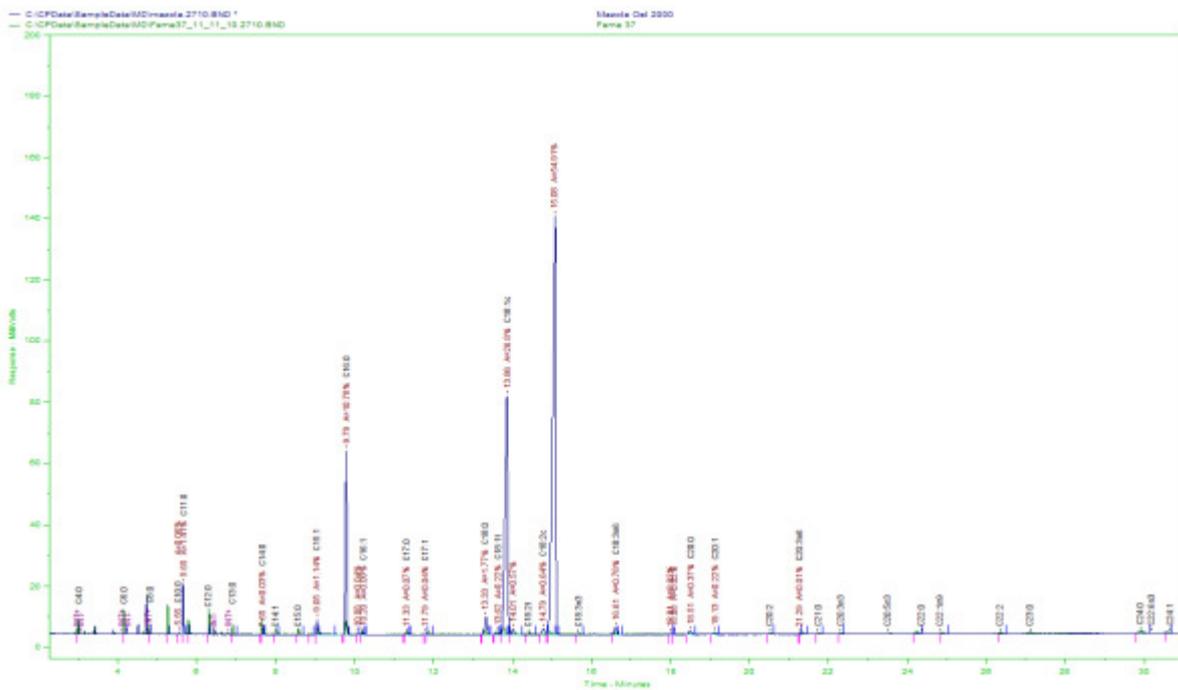


Abbildung 8: GC-Chromatogramm für einen Fettsäurestandard und eine fetthaltige Probe (Fettsäuremethylester)

Die Entwicklung einer analytischen gaschromatographischen Trennmethode zur Bestimmung unterschiedlicher Fettsäuremethylester in Fettsäuregemischen konnte damit erfolgreich abgeschlossen werden. Granulierungsversuche wurden auf Grund der derzeitigen wirtschaftlichen Bedeutung zurückgestellt.

1.4 qualitative und quantitative Bestimmung der Matrixmaterialien in den Granulaten (AP 2.9)

Das Ziel dieses Arbeitspunktes war die Entwicklung einer qualitativen und quantitativen Bestimmungsmethode der zur Granulation eingesetzten Matrixmaterialien. Im Rahmen des Vorhabens haben sich die Matrixmaterialien Maltodextrin, modifizierte Stärken (HiCap100, Capsul) und Gummi arabicum als gut geeignet erwiesen. Bis auf den zuletzt genannten Stoff bestehen die anderen Matrixmaterialien alle vorrangig aus verzweigten Glucoseeinheiten. Die Hauptbestandteile des Gummi arabicum sind L-Arabinose, D-Galactose, L-Rhamnose und D-Glucuronsäure.

Zur qualitativen und quantitativen Bestimmung der Matrixmaterialien wurden die Hochleistungs-dünnschichtchromatographie sowie die Ionenchromatographie auf ihre Eignung hin untersucht.

Im ersten Untersuchungsschritt mussten die Matrixmaterialien in ihre Untereinheiten gespaltet werden. Dies geschah über eine saure Hydrolyse mit Schwefelsäure bei 85°C für ca. 1,5 Stunden. Das Hydrolysat wurde mit Bariumcarbonat neutralisiert und anschließend zentrifugiert. Der Überstand diente als Probe für die Analysen.

Bei den HPTLC- Untersuchungen wurde eine entsprechende Menge an Probe auf Kieselgelplatten aufgetragen und entwickelt. Um die Trennung zu verbessern bzw. zu optimieren, kamen unterschiedliche Fließmittelgemische zum Einsatz.

Als Ergebnis dieser Untersuchungen musste festgestellt werden, dass mit keiner der untersuchten Varianten ein gutes Trennergebnis erzielt werden konnte. Die Abbildung 9 zeigt eine entwickelte und mit Ninhydrin derivatisierte HPTLC- Platte (Auftragsvolumen: 5µl; Eluentengemisch: Chloroform : n-Butanol : Methanol : Wasser : Essigsäure; Verhältnis 4,5:12,5:5:1,5:1,5 - volumenbezogen).

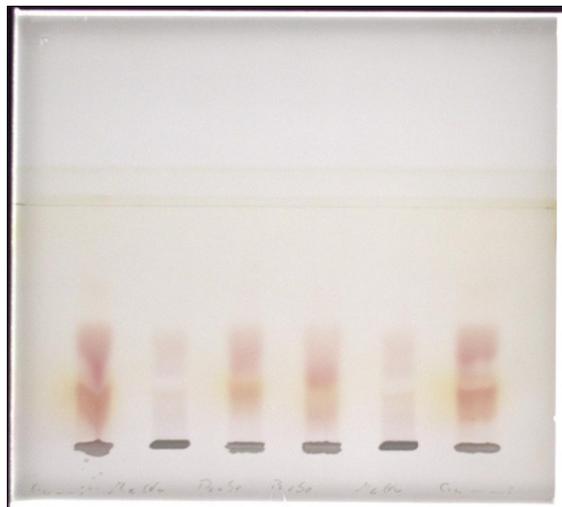


Abbildung 9: entwickelte und derivatisierte HPTLC- Platte mit Matrixmaterialien

Die Probenreihenfolge in der Abbildung 9 von links nach rechts lautet wie folgt:

- Gummi arabicum Rohstoff
- Maltodextrin Rohstoff
- Granulatprobe -> Carvacrolgranulat
- Granulatprobe -> Carvacrolgranulat
- Maltodextrin Rohstoff
- Gummi arabicum Rohstoff

Die mit dieser Methode erzielten Banden sind, wie Abbildung 9 verdeutlicht, sehr unscharf und stark verschmiert. Ein eindeutiger Unterschied in den Banden zwischen den Proben und den Rohstoffen kann nicht erkannt werden. Auch zwischen Gummi arabicum und Maltodextrin werden keine Unterschiede in den Banden deutlich. Wiederholungsversuche mit variierten Bedingungen brachten ebenfalls keine nutzbaren Verbesserungen.

Als Resümee der durchgeführten Untersuchungen lässt sich festhalten, dass die HPLC-Methode für diese Untersuchungen ungeeignet ist. Die Unterschiede in den Grundbausteinen der Ausgangsmaterialien (HiCap, Capsul und Maltodextrin) sind zu gering, um akzeptable Trennergebnisse auf HPTLC-Platten zu erhalten. Auch der Einsatz anderer Fließmittelsysteme und Derivatisierungslösungen sowie der Einsatz der horizontalen Kammer brachten keine Verbesserung in den Trennergebnisse.

Als zweite Möglichkeit zur quantitativen Bestimmung der Matrixmaterialien wurde das ionenchromatographische Trennsystem genutzt. Als Proben dienten wiederum der Überstand der neutralisierten Hydrolysate. Wie aus Abbildung 10 und Abbildung 11 ersichtlich wird, gibt es im Chromatogramm keinen substanzbezogenen Unterschied zwischen Gummi arabicum und Maltodextrin. Allein die Intensität der einzelnen Peaks unterscheidet sich. Dies reicht aber nicht aus, um eine quantitative Analyse aufzubauen. Es können jedoch qualitative Aussagen getroffen werden.

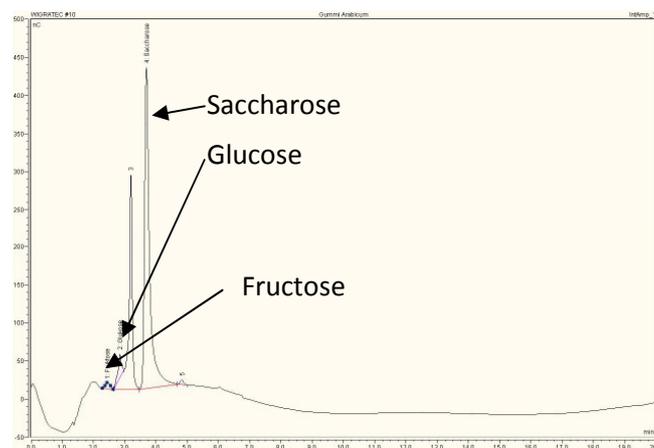


Abbildung 10: Ionenchromatogramm von Gummi arabicum

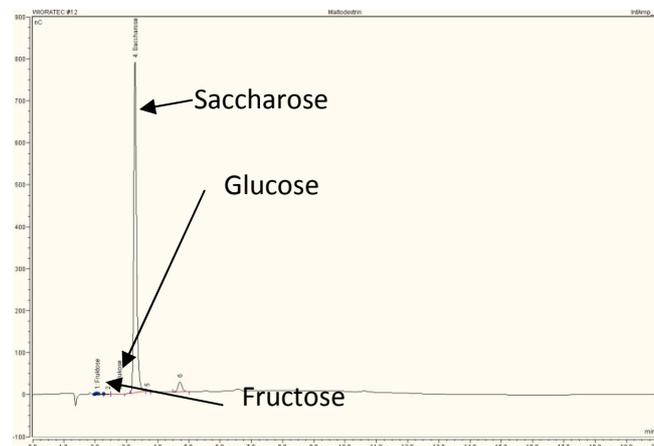


Abbildung 11: Ionenchromatogramm von Maltodextrin

Eine Unterscheidung der einzelnen Matrixmaterialien untereinander wird somit erheblich erschwert und bedarf einer sehr aufwendigen Methodenentwicklung. Auf diese wurde verzichtet, da die verwendeten Ausgangsmaterialien sich im WSG-Prozess inert verhielten und damit keine chemischen Verluste durch entsprechende Reaktionen zu verzeichnen sind. Der Informationsgewinn aus diesen Analysen würde in keinem vertretbaren Verhältnis zum Aufwand für die Methodenentwicklung stehen.

Zusammenfassend muss festgestellt werden, dass eine quantitative Bestimmung der Matrixmaterialien aufgrund des sehr ähnlichen Inhaltsstoffspektrums über die zwei untersuchten Verfahren nicht möglich ist. Auch in der Literatur konnten zu dieser Problematik keine neuen Erkenntnisse bzw. Lösungsvorschläge gefunden werden.

1.5 Granulation und Analytik von Carvacrol (AP 1.1; 2.2; 2.4)

Das Ziel der nachfolgenden beiden Schritte war es, ein Granulat mit zwei lipophilen Wirkstoffkomponenten für die spektroskopischen Untersuchungen herzustellen. Auf Grund der Rohstoffverfügbarkeit und deren Kosten sowie der industriellen Bedeutung fiel die Entscheidung auf das Gemisch „Carvacrol – Terpeneol“. Im ersten Arbeitsschritt galt es, zur Ermittlung der NIR-spektroskopischen Eigenschaften, ein Carvacrolgranulat herzustellen. Die Herstellung von reinen Carvacrolgranulaten diente neben dem bereits genannten auch zur Voroptimierung der Rezepturen für die Sprühhölung und der Betriebsparameter im WSG sowie dem allgemeinen Verhalten bei der Granulatherstellung. Bei diesen Versuchen kam erstmals Gummi arabicum als Matrixmaterial zu Einsatz.

Die Rezepturen der Sprühhölungen für die durchgeführten Versuche mit Carvacrol als Wirkstoff sind der Tabelle 16 zu entnehmen.

Tabelle 16: Rezepturen der Sprühemulsionen zur Granulation von Carvacrol

		Versuche					
Komponente	Einheit	Carva1	Carva2	Carva3	Carva4	Carva5	Carva6
Wasser	Ma%	50	50	50	50	50	50
Maltodextrin	Ma%	15	16	17	18	14	16,5
Gummi arabicum	Ma%	15	16	17	18	14	16,5
Carvacrol	Ma%	20	18	16	14	22	17

Das Verhältnis der Matrixmaterialien zueinander wurde bei den Versuchen konstant gehalten und betrug 50 : 50 (v:v). Die mittleren Prozessparameter bei der Herstellung der Granulate mit diesem Wirkstoff sind in Tabelle 17 aufgeführt.

Tabelle 17: Granulationsbedingungen bei der Herstellung von Carvacrolgranulaten

		Versuche					
Parameter	Einheit	Carva1	Carva2	Carva3	Carva4	Carva5	Carva6
Produkttemperatur	°C	50	50	50	50	50	50
Sprührate	g/min	21	21	21	21	21	21
Sprühdruck	bar	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

Die Granulationsprozesse liefen bei allen Versuchen sehr stabil. In der Abbildung 12 sind beispielhaft die Verläufe der relevanten Temperaturen und des Volumenstroms während eines Granulationsversuches dargestellt. Diese Abbildung veranschaulicht, dass die Produkt- und die Ablufttemperatur sowie der Volumenstrom während des Versuches sehr stabil gehalten werden konnte. Die Zulufttemperatur muss im Verlauf des Versuches manuell immer so geändert werden, dass die Produkttemperatur stabil bleibt.

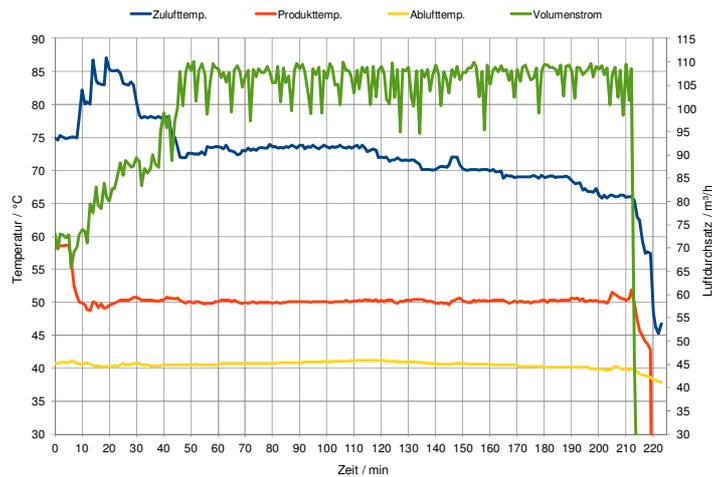


Abbildung 12: Verlauf der Temperaturen und des Volumenstroms während des Granulationsversuches Carva1

Der Produktdruckverlust, am Beispiel für den Versuch Carva1 in der Abbildung 13, ist ein Indiz für die Menge an Granulat im Granulationsbehälter (Bettmasse). Ein sinkender Produktdruckverlust weist auf eine Abnahme des Granulates in der Anlage, d.h., es wird mehr Granulat aus der Anlage ausgetragen als mit der Sprühlösung eingetragen wird. Dieser Effekt kann durch Erhöhung des „Klassierdrucks“ kompensiert werden. Dessen Erhöhung führt zu einer Vergrößerung des Luftstromes durch den Sieber. Dadurch wird die Trennkorngröße zu größeren Korngrößen hin verschoben, was zu einer stärkeren Granulatrückführung in den Prozess führt. Somit steht wieder mehr Granulatoberfläche zum Wachstum zu Verfügung und die Bettmasse steigt wieder langsam an. Aufgrund der Prozessgegebenheiten kann es erforderlich sein, den „Klassierdruck“ regelmäßig zu erhöhen, um einen übermäßigen Granulataustrag zu vermeiden. Im dargestellten Versuch musste der „Klassierdruck“ in der ersten Versuchsphase regelmäßig erhöht werden, da der Produktdruckverlust stetig fiel. Erst ab einem „Klassierdruck“ von 1,0 bar (\triangleq ca. 1mm Partikeltrennkorngröße) stabilisierte sich der Produktdruckverlust und es war kein Nachregeln mehr erforderlich.

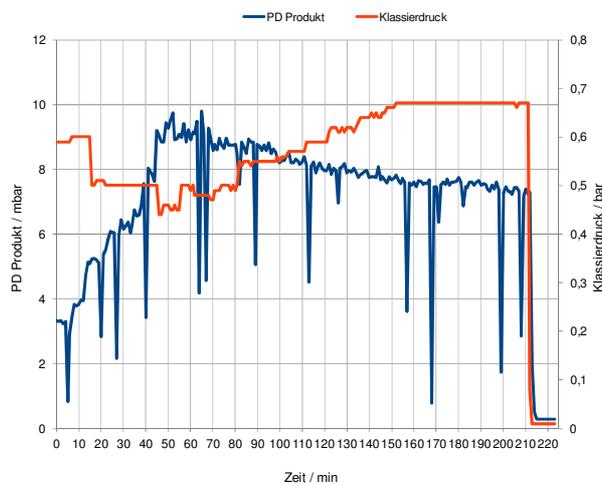


Abbildung 13: Verlauf des Produktdruckverlustes und des „Klassierdruckes“ während des Granulationsversuches Carva1

In der nachfolgenden Abbildung 14 sind die bei den Versuchen mit Carvacrol als Wirkstoff kurz vor Versuchsende ausgetragenen Granulatgrößen dargestellt.

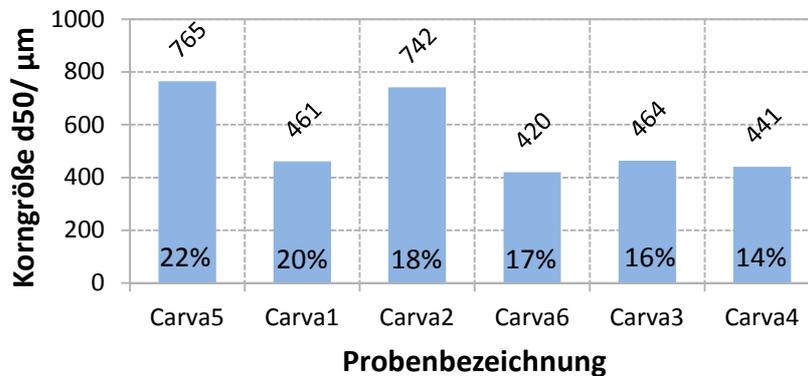


Abbildung 14: Korngrößen der Carvacrolgranulate, Probensortierung in absteigender Carvacrolkonzentration (sortiert nach dem Rezepturwirkstoffgehalt)

Aus der Abbildung wird ersichtlich, dass die hergestellten Granulate zum Teil (Carva 5 und Carva 2) sehr große Unterschiede in den mittleren Korngrößen aufweisen. Aus den Mitschriften der Versuchsdaten ließen sich keine Hinweise auf dieses Verhalten ableiten. Trotzdem muss es bei den Versuchen kleine Unterschiede gegeben haben, die zu einem solchen Verhalten geführt haben.

Ein regelndes Eingreifen während der Granulationsversuche war nur selten notwendig. Der Prozess hielt sich durch eine optimale Produktion von Feinmaterial, welches als Granulationskeim fungiert, selbst aufrecht. Während der Versuche konnte jedoch eine geringe Entmischung der Emulsion beobachtet werden, die jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die Versuche haben sollte und hatte. Nach Abschluss dieser Versuchsreihe wurde festgestellt, dass sich sehr viel Carvacrol im Wirbelschichtgranulator und den Leitungen angesammelt hatte. Diese Beobachtung führte zu der Schlussfolgerung, dass Gummi arabicum zwar eine stabile Prozessführung und die Herstellung gleichmäßiger, feiner Granulate ermöglicht, aber für höhere Wirkstoffkonzentrationen in den Granulaten auf Grund der ungenügenden Emulgiereigenschaften wenig geeignet ist.

Analoge Untersuchungen in einem anderen Anlagenmaßstab wurden bei der Firma Glatt Ingenieurtechnik GmbH durchgeführt. Die Rezepturen sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 18: Rezepturen der Versuche bei der Glatt Ingenieurtechnik GmbH

Komponente	Einheit	Versuche				
		Probe1	Probe2	Probe 3	Probe 4	Probe 5
Wasser	Ma%	50				
Maltodextrin	Ma%	15				
Gummi arabicum	Ma%	15				
Carvacrol	Ma%	20				

Die Ergebnisse der analytischen Untersuchungen der bei diesen Versuchen erzeugten Granulate sind der Abbildung 15 zu entnehmen.

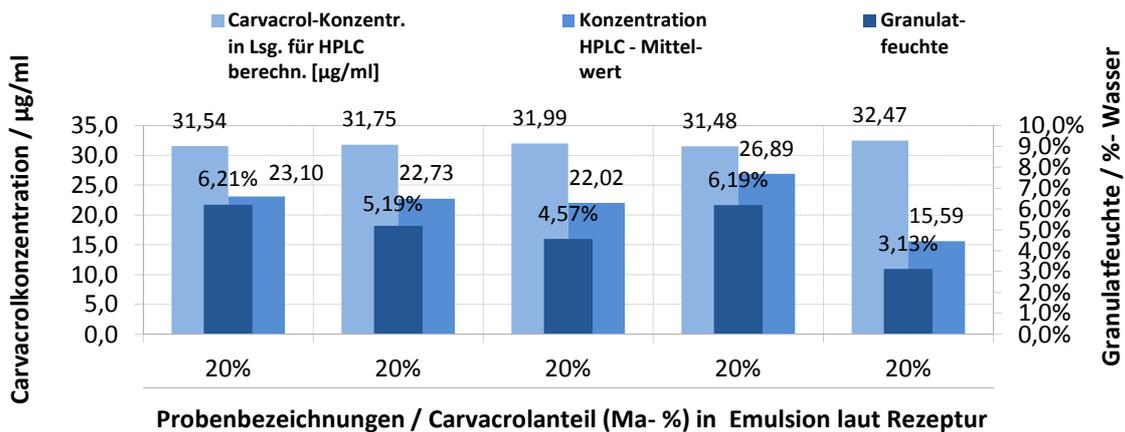


Abbildung 15: Ergebnisse der Carvacrol-Granulationsversuche bei der Firma Glatt Ingenieurtechnik GmbH

Ziel dieser Untersuchungen war das Messen mit der NIR-Sonde unter industriellen Bedingungen. Bei diesen war es nicht das Ziel, eine möglichst hohe Wiederfindung des eingesetzten Carvacrols im Granulat zu realisieren, sondern eine entsprechende Variationsbreite für die NIR-Messungen zu sichern. Die Auswirkungen der Variation der Versuchsbedingungen kann auch der Abbildung 16 entnommen werden, in der die granulometrische Zusammensetzung der erzeugten Granulate zu entnehmen ist.

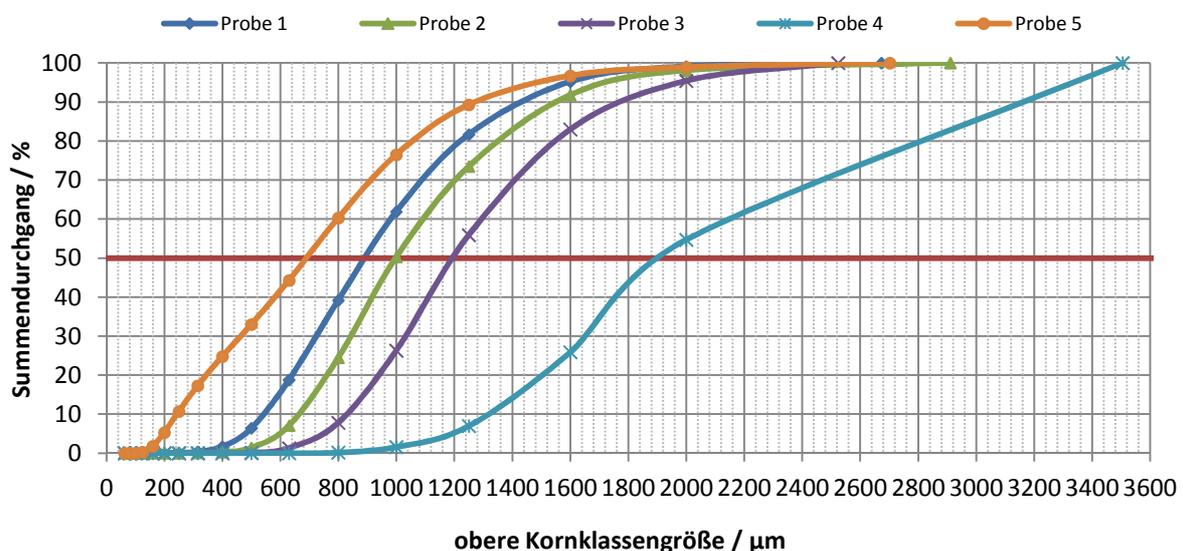


Abbildung 16: granulometrische Zusammensetzung der bei Glatt Ingenieurtechnik erzeugten Carvacrol-Granulate

Auch aus diesen Untersuchungsergebnissen lässt sich ableiten, dass sich das Gummi arabicum zwar sehr gut zum Granulieren eignet, aber auf Grund des schlechten Rückhaltevermögens zu viel Wirksubstanz verloren geht. Die getesteten modifizierten Stärken haben sich da als besser geeignet erwiesen. Auch hier wurde eine gewisse Korrelation zwischen der erzeugten Granulatgröße und der Wirkstoffwiederfindungen (bezogen auf die Rezepturdaten) gefunden.

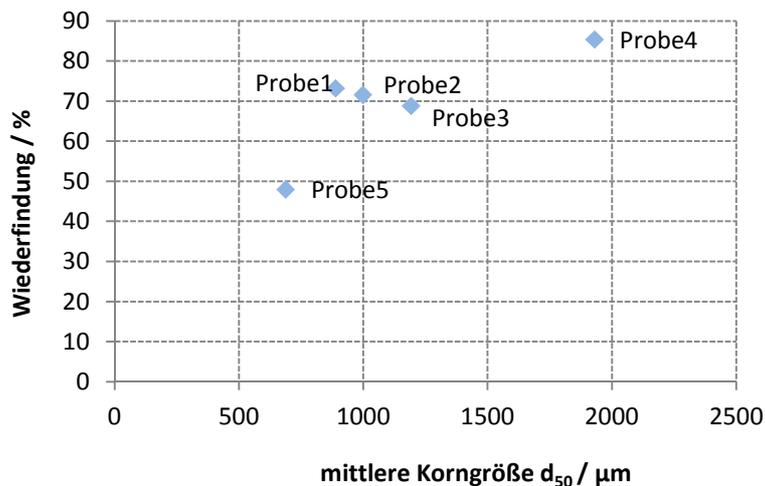


Abbildung 17: Abhängigkeit der Wirkstoffwiederfindung von der d₅₀-Granulatgröße bei den Versuchen in der Firma Glatt Ingenieurtechnik GmbH

Analytische Charakterisierung der Granulate

- Wirkstoffkonzentration

Die quantitative Bestimmung von Carvacrol erfolgte auf zwei Wegen:

- Wasserdampfdestillation
- HPLC

Die Wasserdampfdestillation der Carvacrolgranulate gestaltete sich sehr schwierig. Der Wirkstoff lagerte sich an den Wänden der Apparatur ab und es bildeten sich in der Ablesebürette relativ stabile Luftblasen, die nur zum Teil entfernt werden konnten und damit zu entsprechenden Ablesefehlern führten.

Zum Erhalt genauerer, als bei der Wasserdampfdestillation erzielbarer Werte, wurde zusätzlich eine HPLC- Methode entwickelt, die nachfolgend auch zur simultanen Analyse von Carvacrol und α - Terpineol (siehe Punkt 1.6) eingesetzt wurde.

Die Methodenentwicklung und Validierung mit Standardsubstanzen ergab folgende Ergebnisse:

Kalibrierfunktion: $y = 2,099227 \cdot x - 0,988366$

Bestimmtheitsmaß: 0,99998
 Nachweisgrenze: 0,20 µg/ml
 Bestimmungsgrenze: 0,74 µg/ml

Die Ergebnisse der HPLC- Analysen der Carvacrolgranulate sind in Abbildung 18 zusammengefasst dargestellt.

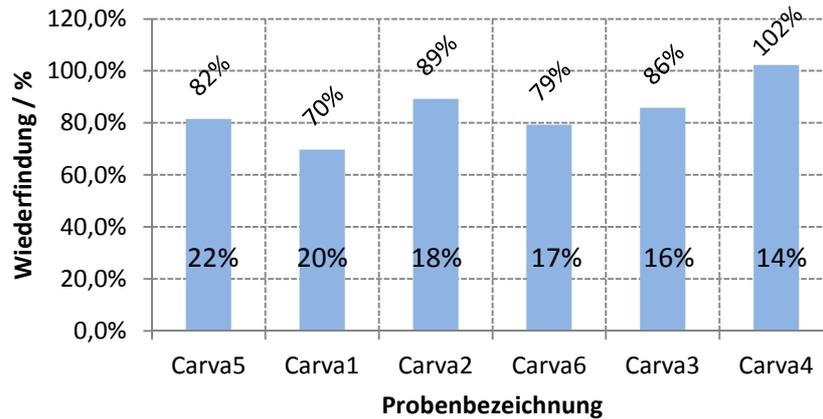


Abbildung 18: mit der HPLC-Methode ermittelte Wiederfindung des Carvacrols in den hergestellten Granulaten (bezogen auf die Rezepturwerte), Probensortierung in absteigender Carvacrolkonzentration

Die größte Wiederfindung wurde, wie auch theoretisch erwartet, bei dem Versuch mit dem geringsten Carvacrolgehalt von 14% in der Sprühemulsion erreicht. Dies stützt die gefundene Erkenntnis, dass Gummi arabicum nicht zur Verkapselung von größeren Gehalten an Wirkkomponente geeignet ist.

Die nachfolgende Abbildung 19 zeigt, dass zwischen der d_{50} – Korngröße und der Carvacrolwiederfindung im Granulat nach der HPLC-Methode kein Zusammenhang gefunden werden konnte.

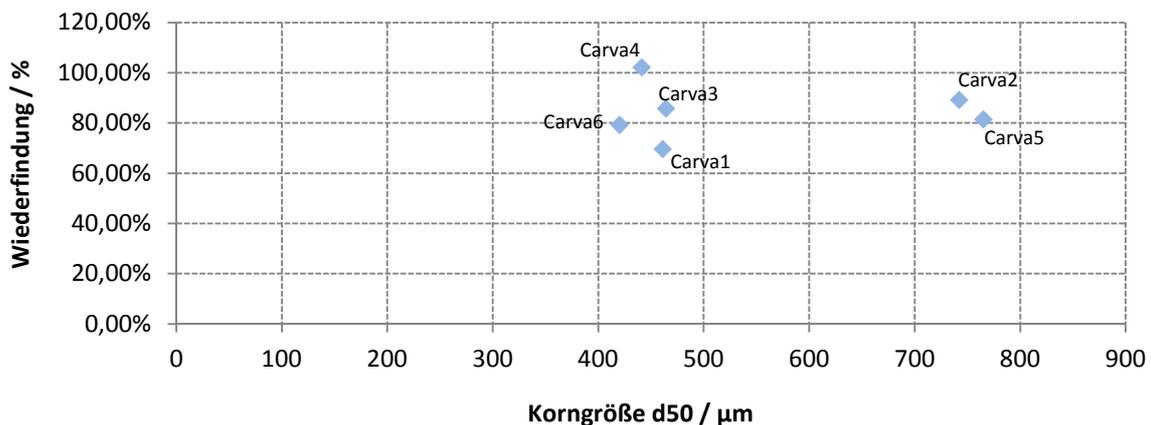


Abbildung 19: Zusammenhang zwischen Korngröße und Wiederfindung der Carvacrolgranulate

Betrachtet man in Abbildung 18 nur die Versuche mit annähernd gleichen mittleren Granulatgrößen, so ist ein Trend in der Abhängigkeit der Wiederfindung von der Wirkstoffkonzentration in der Sprühlösung zu verzeichnen.

In Abbildung 20 sind die Ergebnisse der Wasserdampfdestillation und die der HPLC-Analysen gegenübergestellt.

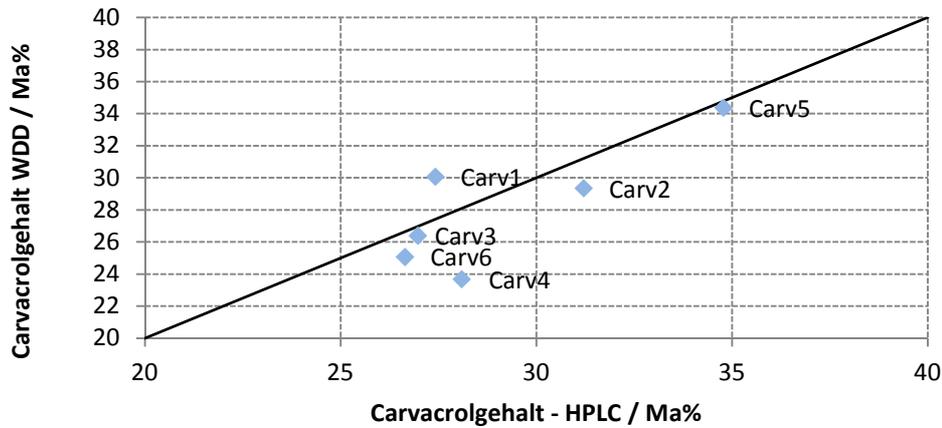


Abbildung 20: Korrelation der Carvacrolgehalte aus der Wasserdampfdestillation und der HPLC-Analyse

Die Gegenüberstellung der Ergebnisse der Wasserdampfdestillation und denen aus der HPLC-Analyse zeigen sehr anschaulich, dass zwar eine akzeptable Korrelation zwischen den beiden Methoden besteht (siehe Abbildung 20), aber die Wasserdampfdestillationsergebnisse nicht zur Bestimmung von NIR-Kennlinien geeignet sind.

- **Granulatfeuchte**

Die Bestimmung der Granulatfeuchte erfolgte auch bei diesem Stoffsystem nach einer modifizierten Karl-Fischer-Titration-Methode mit Ausheizöfen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen können der Abbildung 21 entnommen werden.

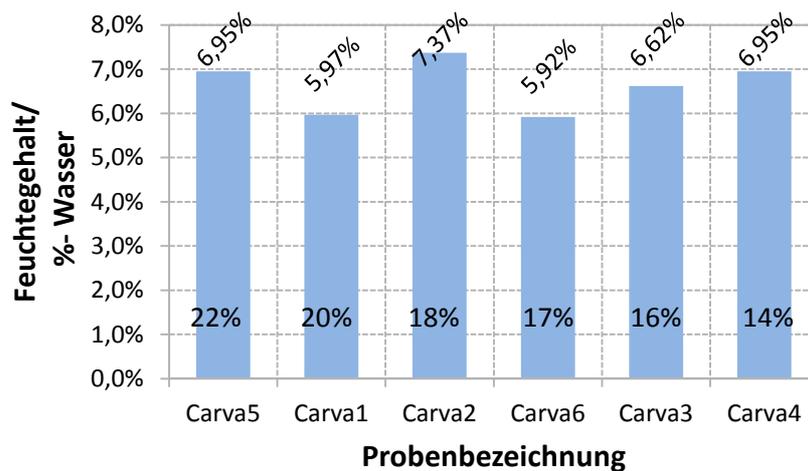


Abbildung 21: Granulatfeuchte der Carvacrolgranulate, Probensortierung in absteigender Carvacrolkonzentration

Der Trend ist ähnlich wie in Abbildung 18. Bei Vernachlässigung der Versuche Carva5 und Carva2 ist mit Abnahme der Wirkstoffkonzentration in der Sprühlösung ein leichter Anstieg in der Granulatfeuchte zu verzeichnen. Die Schwankung (Standardabweichung) zwischen den allen Granulaten liegt bei 0,58 %.

Zur Untersuchung des Einflusses der Korngröße auf die NIR-Messsignale war es erforderlich, die Granulate in entsprechende Fraktionen zu teilen und die Granulatfeuchte durch eine nachträgliche Behandlung auf entsprechende Werte einzustellen. Trockenere Granulate konnten durch Lagerung im Trockenschrank bei 100 °C für 20 min erzeugt werden. Zur Herstellung von Granulaten mit einem möglichst hohen Wassergehalt wurden diese in einem Klimaschrank bei 30 °C und einer relativen Luftfeuchte von 55 % für 24 Stunden gelagert. Die verwendeten Parameter sind in entsprechenden Vorversuchen ermittelt worden. Bei den Vorversuchen im Klimaschrank bei relativen Luftfeuchtigkeiten größer 55 % zeigte sich z.B., dass die Granulate stark verkleben und in Abhängigkeit der untersuchten Stoffsysteme auch miteinander zu einer breiartigen Masse „verschmelzen“. Die Untersuchungsergebnisse der befeuchteten bzw. getrockneten Granulatfraktionen zeigt die Abbildung 22.

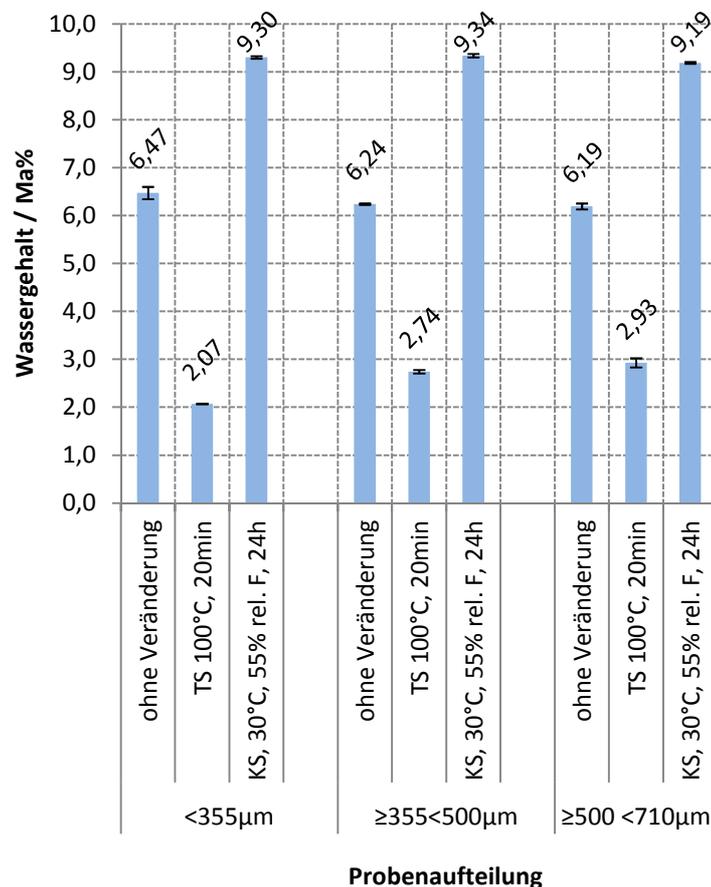


Abbildung 22: Ergebnisse der Feuchtemessung der fraktionierten Carvacrolgranulate

Die Ergebnisse zeigen, dass die Restfeuchte der im Trockenschrank behandelten Granulate mit steigender Korngröße leicht ansteigt. Dies war auch theoretisch so zu erwarten, da der Feuchtetransport aus dem Inneren der Granulate nach außen durch Diffusion erfolgt und dies ein sehr langsamer Pro-

zess ist. Bei den im Klimaschrank befeuchteten Granulaten sind auf Grund der langen Lagerdauer in diesem keine signifikanten Unterschiede mehr vorhanden. Die Zeit für den Konzentrationsausgleich innerhalb des Granulates war hier groß genug.

1.6 Granulation und Analytik des Zweiwirkstoffgemisches „Carvacrol- Terpeneol“ (AP 1.1; 2.2; 2.4; 2.8)

Granulationsergebnisse

Zur Herstellung von Zwei- Wirkstoffgranulaten wurde neben Carvacrol als zweite lipophile Komponente α - Terpeneol verwendet. Als Matrixmaterialien kamen aus Vergleichbarkeitsgründen wiederum Maltodextrin und Gummi arabicum zum Einsatz. Die Herstellung der Sprühlösung erfolgte in Analogie zu der von Emulsionen mit nur einer lipophilen Komponente. Die beiden Wirksubstanzen wurden nacheinander in die matrixmaterialhaltige Lösung eingearbeitet, beginnend mit Carvacrol.

Die Rezepturen für die Sprühemulsionen der ausgewerteten Versuche sind in Tabelle 19 dargestellt.

Tabelle 19: Rezepturen der Sprühemulsionen zur Herstellung der Carvacrol-/ Terpeneolgranulate

Komponente	Einheit	Versuche				
		CarvTerp1	CarvTerp2	CarvTerp3	CarvTerp4	CarvTerp5
Wasser	Ma%	50	50	50	50	50
Maltodextrin	Ma%	15	15	15	15	15
Gummi arabicum	Ma%	15	15	15	15	15
Carvacrol	Ma%	15	10	5	8	12
Terpeneol	Ma%	5	10	15	12	8

Bei dem Rohstoff α - Terpeneol handelte es sich um ein sogenanntes Racemat (äquimolare Mischung der beiden Enantiomere). Es besteht zu gleichen Teilen aus (S)-(-)- α - Terpeneol und (R)-(+)- α - Terpeneol. Dieses Gemisch ist bei Raumtemperatur amorph, verflüssigt sich aber ab einer Temperatur von ca. 32°C. Dieser Rohstoff musste also vor dem Einarbeiten in die Emulsion verflüssigt werden, da eine gleichmäßige Verteilung sonst nicht hätte gewährleistet werden können.

Bei der Herstellung der Granulate im WSG sind ausschließlich die Konzentration der Wirkstoffe in den Sprühlösungen verändert worden. Die technologischen Anlagenparameter des WSG:

- Produkttemperatur = 50°C
- Sprühdruk = 3 bar
- Sprütrate = 21g/min

sind bei allen Versuchen dieser Versuchsreihe beibehalten worden.

Während der Granulationen konnte auch hier beobachtet werden, dass der WSG-Prozess sehr stabil verlief. Ein manuelles Eingreifen in die Prozessregelung erwies sich nur in sehr seltenen Fällen als notwendig. Die erzeugten Granulate waren im Vergleich zu den Granulationsversuchen mit HiCap als Matrixmaterial deutlich kleiner.

Zur Bestimmung der Korngrößenverteilung kam der Camsizers der Firma Retsch zum Einsatz. Bei diesem Messsystem fallen die über eine Vibrationsrinne vereinzelt Granulate in einem Schacht an zwei Kameras vorbei. Diese nehmen Bilder von den Granulaten auf und werten sie aus (z.B. Fläche, Umfang). Aus den so ermittelten Daten werden die Korngrößenverteilung und entsprechende Verteilungskennwerte berechnet. Die für die einzelnen Versuche erhaltenen d_{50} – Werte sind der nachfolgenden Abbildung 23 zu entnehmen.

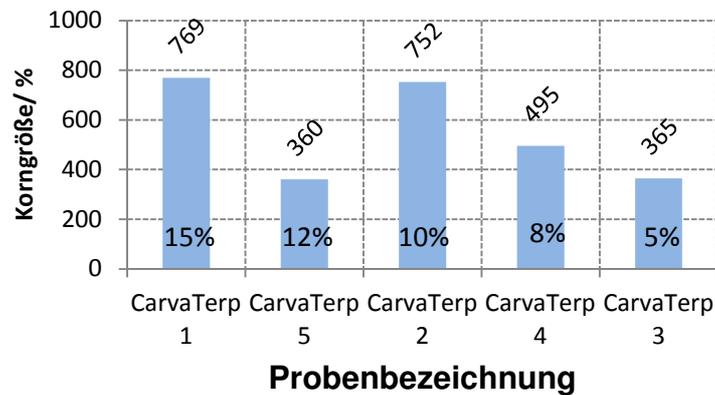


Abbildung 23: Korngrößen der Carvacrol-/ Terpineolgranulate, abgesteigend sortiert nach Carvacrolgehalt

Aus der obigen Abbildung wird ersichtlich, dass zwischen der Carvacrolkonzentration und der Korngröße kein Trend erkennbar ist. Die Streuungen sind damit mit großer Wahrscheinlichkeit auf versuchsbedingte Variationen zurückzuführen. Man kann z.B. den Granulatinhalt im WSG (Restschicht) nicht genau steuern. Dieser hat aber einen großen Einfluss auf die Granulatgröße.

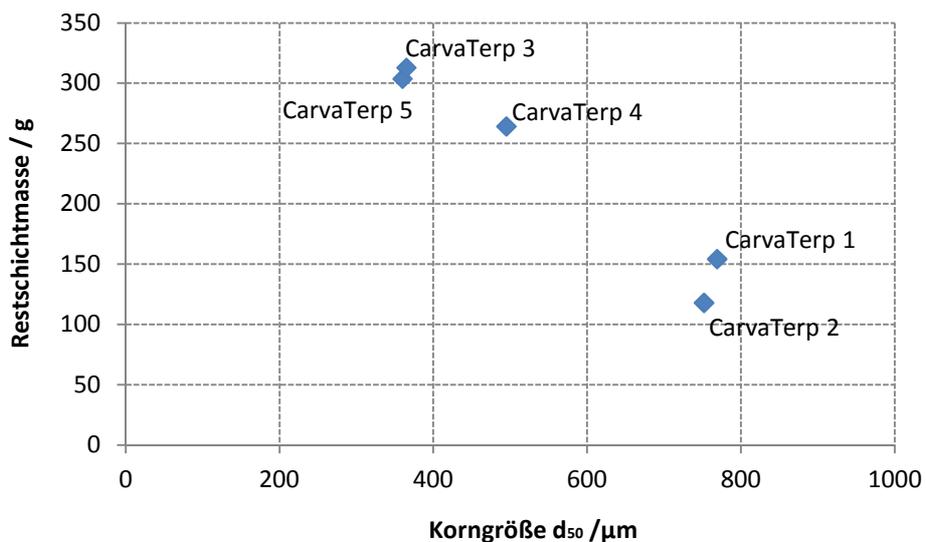


Abbildung 24: Zusammenhang zwischen Restschichtmasse und Korngröße

Wie in der Abbildung 24 deutlich wird, gibt es einen starken Zusammenhang zwischen der Korngröße und der Restschichtmasse (Wirbelschichtbettmasse). Die Partikelgrößen steigen mit sinkender Restschichtmasse an. Die Ursache für diesen Sachverhalt liegt in der im Bett vorliegenden Granulatoberfläche. Bei vielen kleinen Partikeln ist auch eine große Oberfläche vorhanden auf die die zugeführte Sprühlösung aufgetragen wird (geringe Partikelgrößenzunahme). Sind jedoch nur relativ wenige große Partikel in der Sprühzone, dann lagert sich die Sprühlösung auf diese auf und die Teilchen wachsen schnell. Eine Kompensation dieses Verhaltens ist nur zum Teil über eine Veränderung des „Sichterdruckes“ möglich (abhängig von den verwendeten Stoffen und der damit verbundenen Keimbildungsneigung).

Analytische Untersuchungen der Granulate

- Wirkstoffkonzentration

Für die simultane Bestimmung von Carvacrol und α - Terpineol musste eine entsprechende HPLC-Methode inklusive einer geeigneten Probenaufarbeitung entwickelt werden.

Aufgrund der bei den ersten Versuchen ermittelten ähnlichen Retentionszeiten der beiden reinen Wirkstoffe war eine isokratische Trennung des Stoffgemisches nicht möglich, sondern es musste eine Gradientenmethode aufgebaut werden. Für eine bestmögliche Trennung wurden neben verschiedenen Gradientenprogrammen auch unterschiedliche Flussraten und Säulentemperaturen untersucht. Als optimal für die analytische Wirkstoffbestimmung des Zweiwirkstoffgemisches stellten sich die Tabelle 20 enthaltenen Parameter heraus.

Tabelle 20: HPLC- Parameter der simultanen HPLC- Analytik von Carvacrol und Terpineol

Parameter	Einstellung
Lösungsmittel:	Acetonitril
Trennsäule:	ReproSil- Pur C18-AQ, 125x 4mm, 5 μ m (Dr. Maisch GmbH, Art-Nr.: r15.aq.s1204) Vorsäule: ReproSil- Pur C18- AQ, 5x4 mm; 5 μ m (Dr. Maisch GmbH, Art-Nr.: R15.AQ.V0004)
Eluent:	A -> Acetonitril (1 Liter + 1ml Wasser), B -> Wasser (1Liter H ₂ O+ 1ml Essigsäure + 1ml Methanol) <u>Gradientenelution</u>
Flussrate:	0,6ml/ Min
Temperatur:	25°C Säulentemperatur, 6°C Vial- Tray
Injektionsvolumen:	10 μ l
Detektor/ Wellenlänge	DAD, 205nm
Analysezeit:	17 Min.
Gradientenprogramm:	0 – 4 Minuten -> 55% A; 45% B 4 – 5,5 Minuten -> 45% A; 55% B (Gradient) 5,5 – 8 Minuten -> 45% A; 55% B 8 – 9,5 Minuten -> 55% A; 45% B (Gradient) 9,5 – 17 Minuten -> 55% A; 45% B

Die mit dieser Methode erhaltenen Kalibrierdaten sind in Tabelle 21 zusammengestellt. Als Detektor kam bei der HPLC eine DAD zum Einsatz.

Tabelle 21: Kalibrierfunktion, Nachweis-/ Bestimmungsgrenzen für Carvacrol und α - Terpineol

y- Peakfläche in mAU·min; x –Konzentration in $\mu\text{g/ml}$

	Einheit	Carvacrol	S- α - Terpineol
Kalibrierfunktion		$y=2,099227 \cdot x - 0,988366$	$y=0,329414 \cdot x - 0,067979$
Nachweisgrenze	$\mu\text{g/ml}$	0,20	0,23
Bestimmungsgrenze	$\mu\text{g/ml}$	0,74	0,86
Bestimmtheitsmaß	-	0,99998	0,99993
Retentionszeit	min	7,9	6,3

Wie oben erwähnt, besteht der Terpineol- Rohstoff aus (S)- α - Terpineol und (R)- α - Terpineol. Diese beiden Stoffe sind mit der oben aufgeführten HPLC- Methode im Chromatogramm nicht zu unterscheiden. Aus diesem Grund ist eine Kalibrierung mit einer der beiden Substanzen sinnvoll. Da der S- α - Terpineol- Standard die höhere Reinheit aufweist, wurde dieser als Kalibrierstandard verwendet.

Da sich die Probenvorbereitung mittels SPE bei den bereits untersuchten Stoffsystemen bewährt hat, kam diese zur Abtrennung der Matrixmaterialien auch hier zum Einsatz. Nach ersten Testuntersuchungen zeigte sich jedoch, dass das verwendete Standardadsorbens (C18 - Firma: Macherey- Nagel) für diese Extraktionen ungeeignet ist. Um weiterhin das automatisierbare SPE-Verfahren nutzen zu können, wurde nach anderen geeigneten Adsorbentien gesucht. Im Einzelnen wurden folgende Kartuschen mit folgenden Inhaltsstoffen getestet:

- C18ec (Firma: Macherey- Nagel)
- C18f (Firma: Macherey- Nagel)
- Cn/ SiOH (Firma: Macherey- Nagel)
- Strata X (Firma: Phenomenex)
- Bond Elut Plexa (Firma: Agilent).

Die besten Versuchsergebnisse wurden mit den *StrataX* Kartuschen von der Firma *Phenomenex* erzielt. Über manuelle Testuntersuchungen der SPE mit diesen Kartuschen ist es gelungen, auch wieder eine automatische SPE-Extraktion unter Verwendung einer Anlage der Firma *Gerstel* zu entwickeln.

In der nachfolgenden Tabelle sind die erforderlichen Schritte der SPE- Methode zur Abtrennung der Matrixmaterialien aus den Granulatlösungen dargestellt.

Tabelle 22: Schritte für die SPE-Trennung von in Wasser aufgelösten Carvacrol/-Terpineolgranulaten

Schritt	Lösungsmittel	Volumen des Lösungsmittels
Konditionieren der Extraktionskartusche	Methanol	2,5 ml
Konditionieren der Extraktionskartusche	Wasser	2,5 ml
Probenauftragung	gelöstes Granulat	1,2 ml
Entfernen der Störkomponenten	Wasser	2,5 ml
Trocknen der Extraktionskartusche	Stickstoff	Spülen für 30 Sek.
Elution	Acetonitril/ Ethanol (40:60; v/v)	2x 1,5 ml
Trocknen der Extraktionskartusche	Luft	2,5 ml
Homogenisieren des Eluats für 30 s bei 750 min⁻¹ in der SPE		

Durch Kombination der SPE- und der HPLC-Methode war es möglich, eine Methode für die qualitative und quantitative Bestimmung von Carvacrol und α -Terpineol erfolgreich zu entwickeln und zu validieren. Ein unter Anwendung dieser Methoden erhaltenes Beispielchromatogramm zeigt die Abbildung 25.

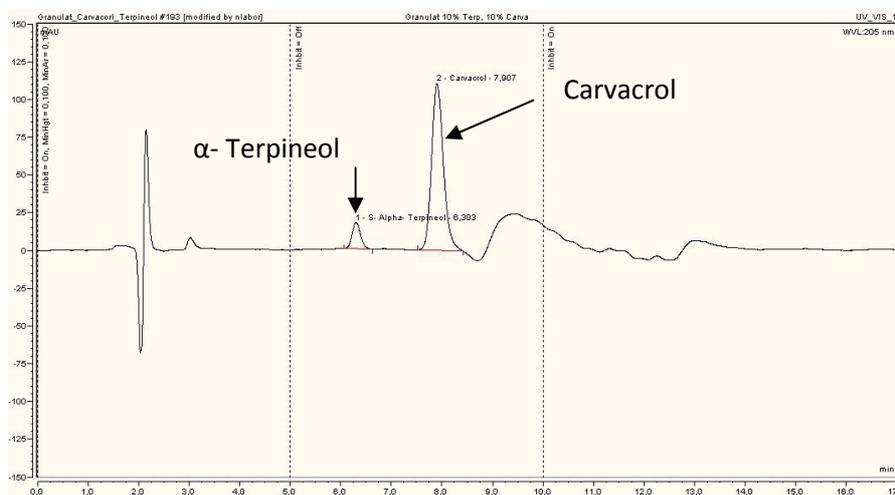


Abbildung 25: HPLC-Ergebnischromatogramm einer mittels SPE extrahierten Carvacrol-/Terpineolgranulatlösung

Basierend auf diesen Methoden wurden die verschiedenen Granulate mit den unterschiedlichen Wirkstoffgehalten analysiert. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgelistet.

Tabelle 23: HPLC- Analyseergebnisse der mit SPE extrahierten Carvacrol-/ Terpeneolgranulaten

Wirkstoffkonzentration in Emulsion (Ma- %)		Wirkstoffgehalte berechnet (µg/ml)		Wirkstoffgehalte laut HPLC (µg/ml)		Wiederfindung (%)	
Carvacrol	Terpineol	Carvacrol	Terpineol	Carvacrol	Terpineol	Carvacrol	Terpineol
15	5	23,68	7,89	23,38	6,16	98,71	77,98
10	10	15,64	15,64	14,37	10,54	91,82	67,35
5	15	7,92	23,77	6,75	14,60	85,24	61,42
8	12	12,64	18,96	8,84	10,74	69,96	56,63
12	8	18,91	12,61	12,58	6,77	66,54	53,72

Die Abbildung 26 stellt die Ergebnisse aus der Tabelle 23 übersichtlich als Diagramm dar. Die in den Balken der Abbildung angegebenen Konzentrationen sind die Rezepturkonzentrationen des Carvacrols in der Sprühhlösung. Die Versuche wurden in der Abbildung absteigend nach der Carvacrolkonzentration in der Sprühhlösung sortiert.

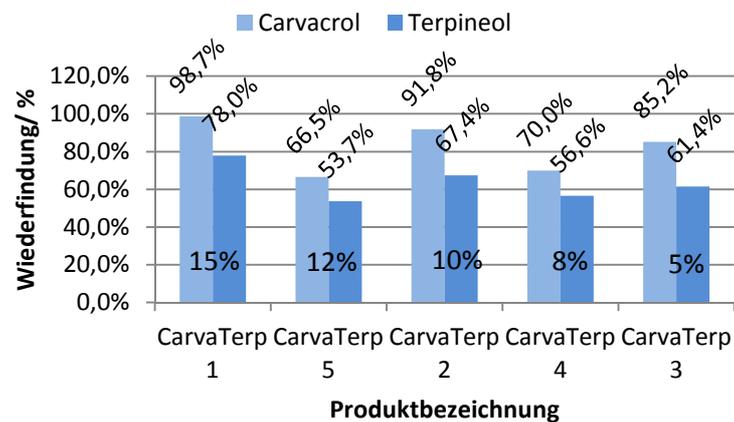


Abbildung 26: mittels HPLC-Analysedaten bestimmte Wiederfindungen (bezogen auf die Rezepturdaten) der Wirkkomponenten Carvacrol und Terpeneol

Die obige Abbildung zeigt sehr anschaulich, dass in Abhängigkeit der Carvacrolkonzentration kein signifikanter Trend hinsichtlich der Wiederfindung der Wirkkomponenten in den Granulaten zu verzeichnen ist.

In Abhängigkeit der erzeugten Korngrößen (Abbildung 27) lässt sich mit steigender Korngröße auch ein leichter Trend zu einem Anstieg der Wiederfindung der Wirkkomponenten erkennen. Dieser gefundene Trend steht im Widerspruch zu der in Abbildung 19 gefundenen Aussage. Zur Aufklärung dieses Sachverhaltes wären weitere Untersuchungen erforderlich, die jedoch weder Gegenstand des Vorhabens noch zeitlich im Rahmen des Vorhabens möglich gewesen wären.

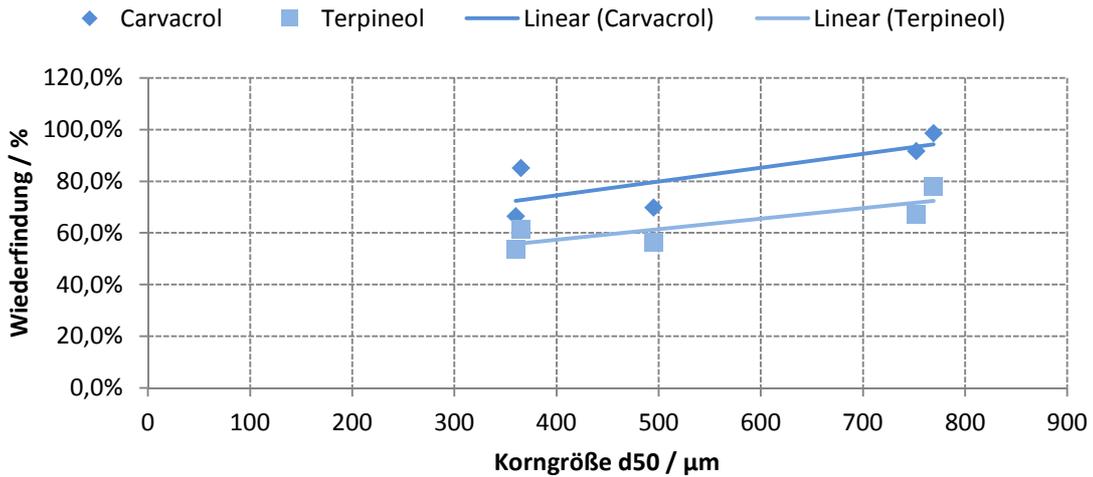


Abbildung 27: Zusammenhang zwischen Korngröße und Wirkstoffwiederfindung der Carvacrol-/ Terpineolgranulate

- Granulatfeuchte

Die Feuchtegehalte der produzierten Carvacrol-/ Terpineolgranulate sind in der Abbildung 28 dargestellt. Die Proben in dieser Abbildung sind absteigend nach dem Carvacrolgehalt sortiert.

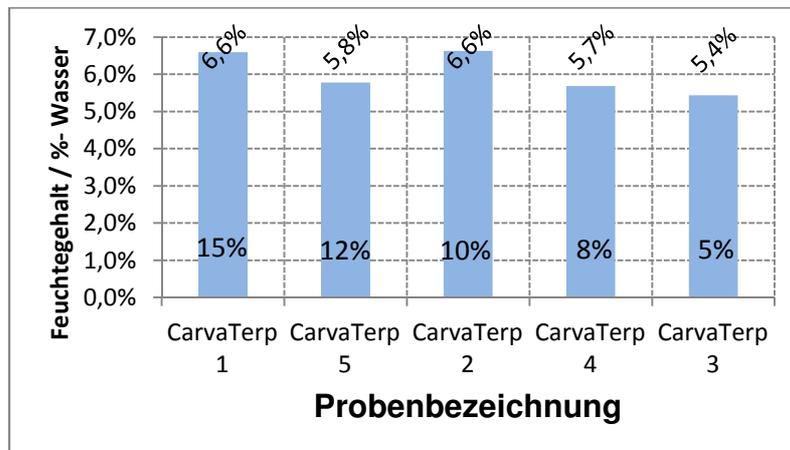


Abbildung 28: Feuchtegehalte der Carvacrol-/ Terpineolgranulate (absteigend sortiert nach Carvacrolgehalt)

Die Feuchtwerte liegen mit einer Schwankung (Standardabweichung) von 0,55 % sehr nah zusammen und mit ca. 5- 6% auch im zu erwartenden Bereich. Bei Vernachlässigung des Versuchs CarpaTerp2 ist ein leichter Trend hinsichtlich der Abnahme der gemessenen Feuchten mit sinkender Carvacrolkonzentration zu erkennen. Ob der Versuch CarvaTerp2 ein Ausreiser ist, kann bei den wenigen Versuchen nicht eindeutig geklärt werden. Im Versuchsprotokoll (Maschinenparameter) waren keine Auffälligkeiten erkennbar. Eine mögliche Ursache für die relativ hohen Feuchtigkeitswerte der Versuchsproben CarvaTerp1 und CarvaTerp2 könnte der recht hohe d_{50} -Wert dieser Proben sein.

Vertraulicher Teil

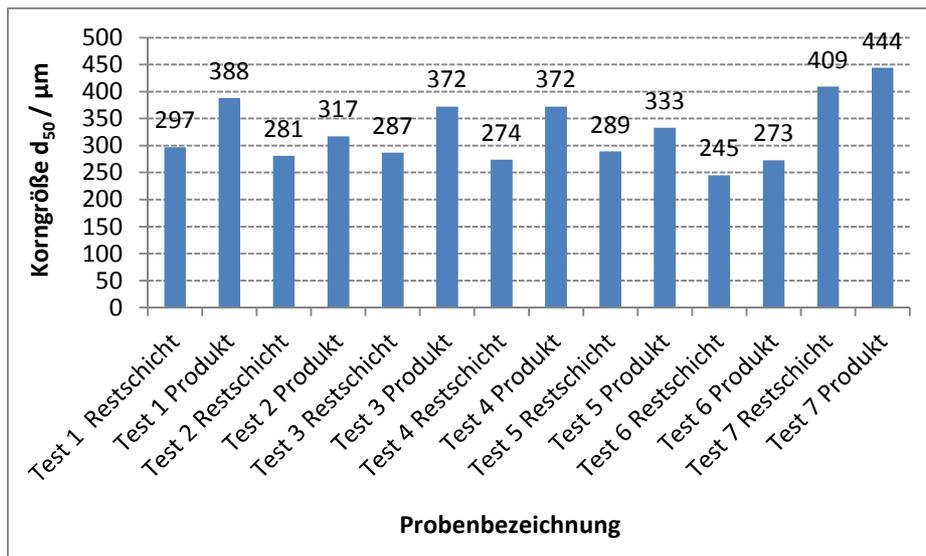


Abbildung 29: Korngrößenergebnisse der Capsicumgranulate

Analytische Charakterisierung der Granulate

Für die simultane Bestimmung der Konzentration der drei Wirkstoffkomponenten musste eine neue HPLC-Methode entwickelt und validiert werden. Die dafür erforderlichen Arbeiten wurden im Rahmen des Verbundvorhabens 6 erfolgreich durchgeführt. Die Bestimmung der zur Auswertung der NIR-spektrometrischen Untersuchungen (von PP 3 Untersuchungen realisiert) benötigten analytischen Daten erfolgte auf der Grundlage der im Verbundvorhaben 6 ermittelten Kalibrierfunktionen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden sowohl der LLA Instruments GmbH (Projektpartner im Verbundvorhaben 1) als auch der Glatt Ingenieurtechnik GmbH (Projektpartner im Verbundvorhaben 6) zur weiteren Auswertung übergeben.

- Wirkstoffkonzentration

Die analytisch bestimmten Wirkstoffkonzentrationen für die einzelnen Granulate können der Abbildung 30 entnommen werden.

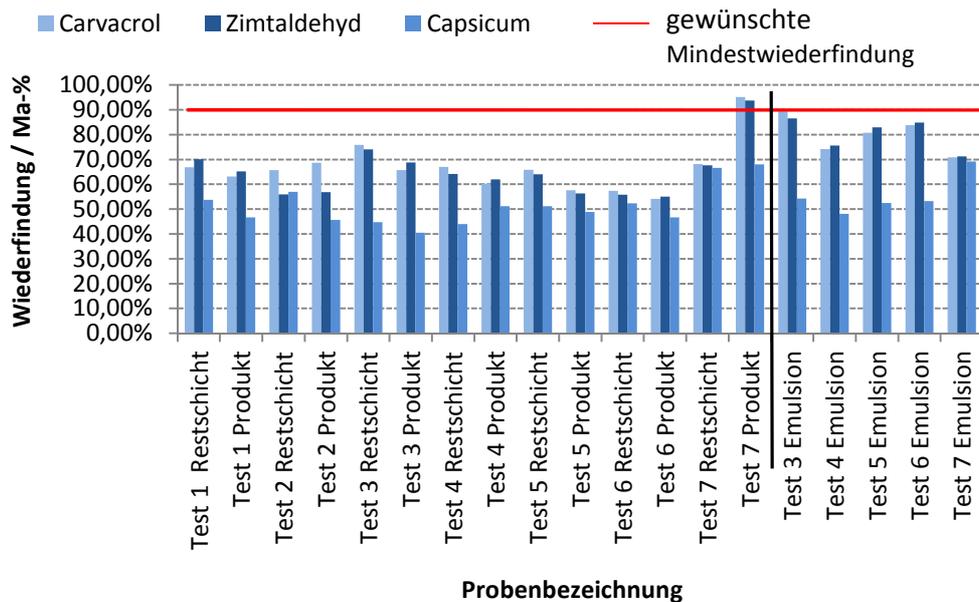


Abbildung 30: Wiederfindung der Wirkkomponenten Capsicumgranulat (Granulatfeuchte wurde in der Bestimmung berücksichtigt)

Entgegen der im Antrag aufgeführten, anzustrebenden Wiederfindungsraten von 80-85% wurde bei diesem Stoffsystem aus wirtschaftlicher Sicht eine Wiederfindungsrate von > 90% gefordert. Diese Zielstellung wurde nur bei Test 7 im Produkt für Zimtaldehyd und Carvacrol erreicht. Der gefundene große Unterschied zwischen Restschicht und Produkt ist mit dem vorliegenden Datenmaterial nicht erklärbar. Der große Nachteil von Produkt 7 ist, dass das eingesetzte Matrixmaterial HiCap relativ teuer ist und damit die Gesamtrentabilität des Produktes noch geklärt werden muss. Bei den übrigen getesteten Matrixmaterialien sind die Wiederfindungsraten der Wirkkomponenten hinsichtlich der Anforderungen der Hersteller deutlich zu niedrig.

- **Granulatfeuchte**

Die mittels Karl-Fischer-Titration ermittelten Feuchtegehalte der einzelnen Granulate in sind der Abbildung 31 zu entnehmen.

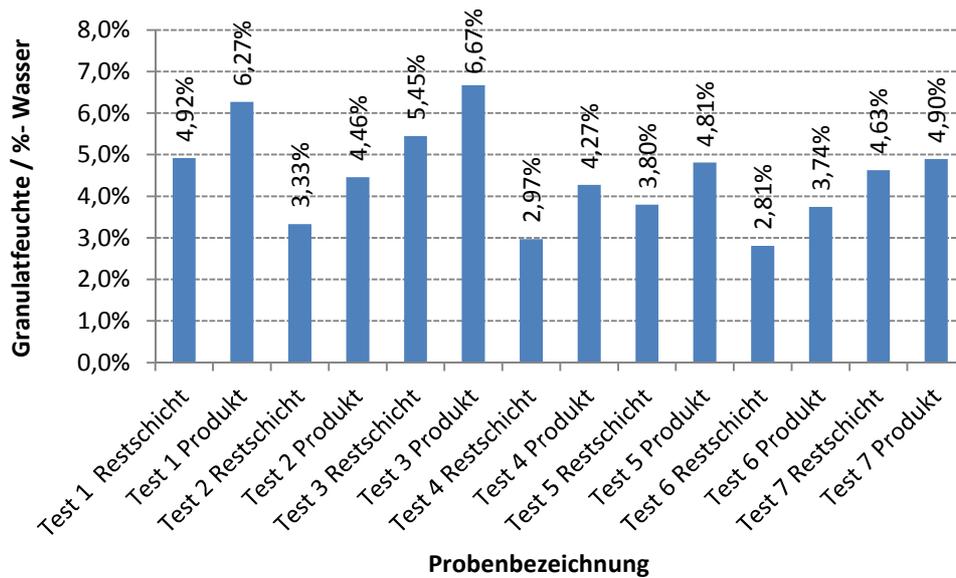


Abbildung 31: Ergebnisse der Granulatfeuchten der Capsicumgranulate

Da die Restschicht nach Beendigung der Granulation bis zum Abkühlen der Anlage noch im Prozessbehälter verbleibt und weiter bewegt wird, sinkt der Feuchtegehalt im Vergleich zur Produktprobe noch etwas ab. Demzufolge sind die Proben aus der Restschicht immer etwas trockener als die Produktproben.

1.7 Analytik weiterer aromaaktiver Wirkstoffe (AP 2.4; 2.8)

Eine entscheidende Voraussetzung für die Etablierung von geeigneten HPLC und GC-Analysenmethoden ist, dass die Retentionszeiten der einzelnen zu bestimmenden Substanzen mit der entwickelten Methode eindeutig identifizierbar und reproduzierbar sind. Aus diesem Grund wurden im ersten Schritt für die interessantesten Stoffe die Retentionszeiten unter Verwendung von Standardsubstanzen für eine GC-Analyse bestimmt (siehe nachfolgende Tabelle).

Tabelle 24: Retentionszeiten von Standardsubstanzen im GC, Trennsäule -> TR- 5MS

Substanz	Verdünnung mit n-Hexan	Retentionszeit [Rt]
(+)- Fenchon	1 : 2000	8,97
(+)- Limonen	1 : 2000	7,67
alpha- Terpineol	1 : 2000	11,97
alpha- Terpinen	1 : 2000	7,45
gamma- Terpinen	1 : 2000	8,24
alpha- Thujon	1 : 2000	9,38
β- Pinen	1 : 2000	6,86
DL- alpha- Pinen	1 : 2000	6,22

Als Ergebnis dieser Untersuchungen kann festgehalten werden, dass sich diese Stoffe, auch in Kombination, mittels gaschromatographischer Trennmethoden sowohl qualitativ als auch quantitativ bestimmen lassen.

Für einige dieser ursprünglich zur Verkapselung vorgesehenen Wirkstoffe sind entsprechende Methoden zu deren qualitativen und quantitativen Bestimmung entwickelt worden. Als Analyseverfahren kam hierbei ein GC mit FID zum Einsatz. Die Erstellung der Kalibrierfunktionen (siehe Tabelle 25) erfolgte mit Standardsubstanzen.

Tabelle 25: Kalibrierdaten für GC- Analytik von aromaaktiven Komponenten

Substanz	Retentions-Zeit (min)	Kalibrier-funktion (y=)	Nachweis-grenze	Bestim-mungs-grenze	Bestimmt-heitsmaß
α- Terpinen	7,38	1603878·x + 189964	2,30µg/ml	7,81µg/ml	0,9989
α- Pinen	6,17	1864668·x + 223853	2,20µg/ml	7,48µg/ml	0,9990
α- Thujon	9,32	91436119·x – 13287,7	1,99µg/ml	6,82µg/ml	0,9992

Da in der Literatur keine Rezepturen zur Verkapselung dieser Stoffe gefunden werden konnten und Rezepturentwicklungen sehr zweitaufwendig gewesen wären, wurde die weitere Bearbeitung dieser Substanzen zugunsten einer intensiveren Untersuchung der wirtschaftlich interessanten Gemische zurückgestellt.

1.8 Untersuchungen zur Kalibrierung des kapazitiven Feuchtesensors und des NIR- Sensors (AP 1.4 1.9)

Die Kalibrierung des kapazitiven Feuchtesensors sowie des NIR- Sensors für die betriebliche Feuchtemessung wurden mit reinem Maltodextrin granulaten und den Waschmittelszusätze Sokalan CP42 und HP56 durchgeführt.

Zu Beginn dieser Untersuchungen wurde versucht, Maltodextrin granulate mit unterschiedlicher Feuchte im Wirbelschichtgranulator (diskontinuierliche Prozessführung) herzustellen. Die Granulate sollten mit unterschiedlichen Sprühdrate und Produkttemperaturen (Tabelle 26) auf verschiedene Feuchte eingestellt werden.

Tabelle 26: Versuchsplan zur FeuchteEinstellung von Maltodextrin in der Wirbelschicht

Versuchsbezeichnung	Einheit	<i>Ifa_001</i>	<i>Ifa_002</i>	<i>Ifa_003</i>	<i>Ifa_004</i>	<i>Ifa_006</i>	<i>Ifa_007</i>
Produkttemperatur	°C	45	50	55- 58	60- 65	80	80
Sprühdrate	g/min	30	30	20	20	30	20
Sprühdruk	bar	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Sonstige Bedingungen		---	---	---	---	---	Nachtrocknung im WSG

Der Versuch *Ifa_001* konnte nicht erfolgreich abgeschlossen werden. Die niedrige Produkttemperatur und die hohe Sprühdrate führten zu einer starken Agglomeration des Maltodextrins und so zum Zusammenbruch der Wirbelschicht. Dieser Versuch wird in der weiter Auswertung nicht berücksichtigt.

Alle weiteren Versuche konnten bis zum Ende durchgeführt werden. Lediglich die gewünschte Produkttemperatur von 80°C konnte nicht ganz erreicht werden. Die Sprühdauer musste teilweise auch reduziert werden um den Prozess zu stabilisieren. So ergeben sich folgende tatsächliche Wirbelschichtparameter (Tabelle 27):

Tabelle 27: tatsächliche Granulationsparameter für Maltodextringranulate zur Feuchtekalibrierung

Versuchsbezeichnung	Einheit	<i>Ifa_002</i>	<i>Ifa_003</i>	<i>Ifa_004</i>	<i>Ifa_006</i>	<i>Ifa_007</i>
Dauer der Vortrocknung der Maltodextrinkeimvorlage	min	---	---	---	---	20
mittl. Produkttemperatur	°C	51,14	58,12	64,22	74,49	75,88
Volumenstrom	m ³ /h	45 - 90	40 - 65	40 - 65	35 - 50	30 - 40
mittl. Sprühdauer	g/min	29,4	25,3	24,9	31,5	17,7
Sprühdauer	bar	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Dauer der Nachrocknung der erzeugten Granulate	min	---	---	---	---	10

Das mit diesen Versuchen hergestellte Granulat wurde ausschließlich für die Kalibrierung des kapazitiven Feuchtesensors des Forschungspartners IFA GmbH genutzt. Die Ergebnisse der Karl- Fischer-Titration können der Tabelle 28 entnommen werden. Durch dieses Vorgehen war die Bereitstellung von Proben mit einem Feuchtegehalt von 1,6 bis 8,3% möglich.

Tabelle 28: Ergebnisse der Feuchtebestimmung der Maltodextringranulate nach Karl- Fischer

Versuchsbezeichnung	Einheit	<i>Ifa_002</i>	<i>Ifa_003</i>	<i>Ifa_004</i>	<i>Ifa_006</i>	<i>Ifa_007</i>
mittl. Produkttemperatur	°C	51,1	58,1	64,2	74,5	75,9
Anzahl der Messungen		8	3	3	7	3
mittl. Feuchtegehalt vor den Sensormessungen	%	8,28	7,03	6,32	3,87	1,64
Standardabweichung	%	0,24	0,12	0,14	0,36	0,01
Variationskoeffizient		2,89	1,68	2,20	9,34	0,36
mittl. Feuchtegehalt nach den Sensormessungen	%	8,01	7,26	6,77	7,27	2,43

Die Granulate ändern, wie die obige Tabelle verdeutlicht, während der Messungen mit dem kapazitiven Sensor durch den Kontakt mit der Umgebungsluft ihren Feuchtegehalt. Eine besonders starke Änderung (Wasseraufnahme) war beim trockensten Granulat (*Ifa_007*) zu verzeichnen. Aus diesem Grund sollten bei sehr trockenen Produkten die Messungen möglichst schnell erfolgen, um die Messfehler durch Feuchtigkeitsaufnahme so gering wie möglich zu halten.

Eine Siebanalyse der Maltodextringranulate zeigte, dass die geringste Korngröße, wie theoretisch auch zu erwarten war, beim Versuch *Ifa_007* (hohe Produkttemperatur im Granulator, niedrige Sprühdauer) erzielt wurden. Im Gegensatz dazu erreichte der Versuch *Ifa_002* (niedrige Temperatur, hohe Sprühdauer) die größten Korngrößen (Abbildung 32).

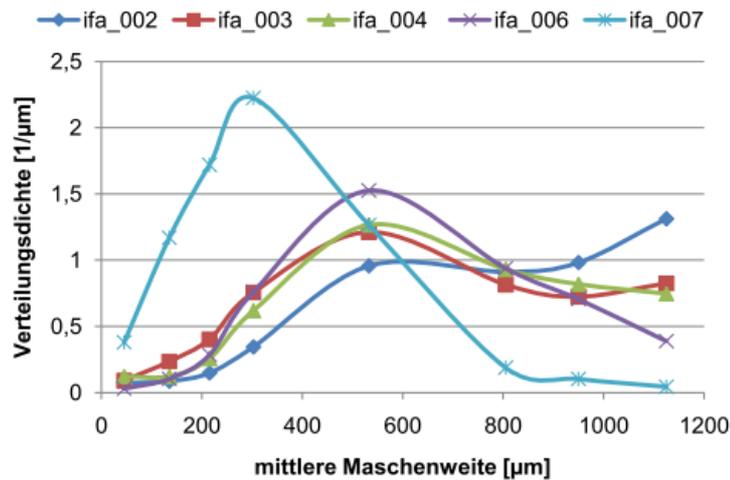


Abbildung 32: Siebanalyse der Maltodextringranulate

Ein Einfluss der Korngröße auf die Granulatfeuchte konnte bei diesen Granulaten nicht festgestellt werden.

Diese diskontinuierlichen Versuche haben gezeigt, dass durch Variation der Versuchsparameter im Wirbelschichtprozess Granulate mit unterschiedlichen Feuchten erzeugt werden können. Der Variation in der Feuchte sind aber aufgrund der Prozessstabilität Grenzen gesetzt. So ist ein Feuchtegehalt von mehr als 8% kaum realisierbar. Eine weitere Beschränkung ergibt sich hinsichtlich der erzeugbaren Granulatmenge. So kann man in der verwendeten Anlage 500g Produkt in der Wirbelschicht schon als Maximum betrachten. In Hinblick auf die Sensormessungen ist dies deutlich zu wenig. Insofern ist festzustellen, dass die Herstellung von Granulaten unterschiedlicher Feuchte im Batch-Wirbelschichtverfahren dieser Größenordnung für den vorgesehenen Einsatz nicht praktikabel ist und eine andere Möglichkeit zur Feuchteinstellung gefunden werden musste. Durch eine gezielte Nachtrocknung im Trockenschrank bzw. Befeuchtung in einem Klimaschrank konnte diese Aufgabenstellung gelöst werden. Mit diesen Möglichkeiten lassen sich größere Produktmengen und größere Spreizungen der Feuchtegehalte sehr leicht erzeugen. Im weiteren Verlauf wurden die erforderlichen Proben von Sokalan CP42 und HP56 (Produkte der Firma Pergande) sowie alle weiteren Kalibrierproben auf diese Weise hergestellt. Die Parameter für die Trocknung bzw. Befeuchtung der Sokalanproben sind in der Tabelle 29 enthalten.

Tabelle 29: Bedingungen zur Feuchteinstellung und Ergebnisse der Feuchtebestimmung von Sokalan CP42 und HP56

	Einheit	Trockenschrank		Klimaschrank		Original
Bedingungen CP42						
Probenbezeichnung		TS15min	TS24h	KS1,5h	KS3h	Original
Temperatur	°C	120	120	25	25	unverändert
rel. Luftfeuchte	%	---	---	45	45	unverändert
Dauer	h	0,25	24	1,5	3	unverändert
Bedingungen HP56						
Probenbezeichnung		TS20min	TS1h	KS30min	KS1,5h	Original
Temperatur	°C	120	120	25	25	unverändert
rel. Luftfeuchte	%	---	---	45	45	unverändert
Dauer	h	0,3	1	0,5	1,5	unverändert

Die Feuchtebestimmung nach Karl- Fischer und eine von der Firma Pergande vorgegebene Trockenschrankmethode dienen als referenzanalytische Methoden. Die Trockenschrankmethode wird von den Geschäftskunden der Produkte als Referenzmethode zur Feuchtebestimmung vorgeschrieben, auch wenn sie nicht die genauesten Werte liefert.

Bei der Trockenschrankmethode waren folgende Schritte zu einzuhalten:

- Probeneinwaage: 1g
- Lagerung im Trockenschrank: bei 120°C für 2 Stunden
- nach Trockenschrank: 30 Minuten in Exsikkator
- Bestimmung der Trockensubstanzmenge (gravimetrisch)
- Berechnung des Feuchtegehaltes unter Verwendung der Formel

$$F_A = \frac{m_P - m_{SR}}{m_R} \cdot 100$$

mit F_A -flüchtige Anteile (%)

m_P -Masse Produkt inkl. Schale (g)

m_{SR} -Masse Rückstand inkl. Schale (g)

m_R - Masse Rückstand inkl. Schale (g)

Die Feuchtemessungen nach den beiden Methoden ergaben für Sokalan CP42 die in der Tabelle 30 bzw. in Abbildung 33 und für Sokalan HP56 die in Tabelle 31 bzw. in Abbildung 35 aufgeführten Werte.

Tabelle 30: Ergebnisse der Feuchtebestimmung von Sokalan CP42

Ergebnisse Sokalan CP42,		<u>Karl- Fischer- Titration</u>									
Probenbezeichnung	Einheit	<i>TS15min</i>		<i>TS24h</i>		<i>KS1,5h</i>		<i>KS3h</i>		<i>Original</i>	
Feuchtegehalt (n=2)	%	3,79		1,31		6,77		8,13		3,63	
Standardabweichung (n=2)	%	0,01		0,02		0,06		0,01		0,12	
Variationskoeffizient (n=2)	%	0,30		1,46		0,95		0,07		3,17	
Ergebnisse Sokalan CP42,		<u>Trockenschrankmethode</u>									
Masse Schale	g	39,759	43,739	52,424	46,908	35,567	38,843	45,906	47,957	39,481	45,299
Masse Produkt	g	1,012	1,093	1,015	1,024	1,055	1,016	1,009	1,016	1,008	1,076
Masse Schale + Rückstand	g	40,748	44,803	53,433	47,930	36,561	39,799	46,845	48,906	40,460	46,349
Masse Rückstand	g	0,989	1,064	1,009	1,022	0,994	0,956	0,939	0,949	0,979	1,050
flüchtige Anteile	%	2,273	2,653	52,424	46,908	35,567	38,843	45,906	47,957	39,481	45,299
Mittelwert flüchtige Anteile	%	2,46		0,39		5,84		6,77		2,65	
Standardabweichung	%	0,27		0,28		0,09		0,24		0,33	
Variationskoeffizient	%	10,92		71,18		1,49		3,59		12,31	

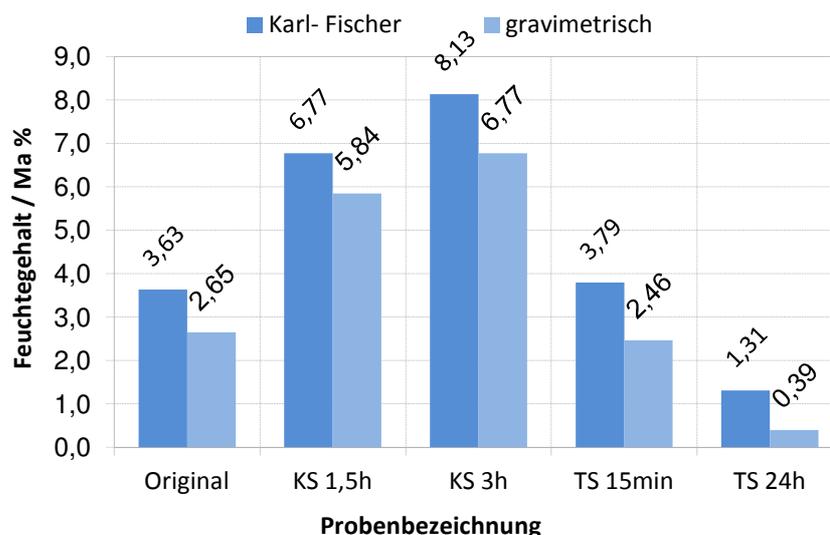


Abbildung 33: Ergebnisse der Feuchtebestimmung von Sokalan CP42

Die mit der Trockenschrankmethode generierten Werte für Sokalan CP42 ergaben einen geringeren Feuchtegehalt als die Karl- Fischer- Titration. Dies lässt den Schluss zu, dass bei der Trockenschrankmethode nicht das gesamte Wasser aus den Granulaten entfernt konnte. Zwischen beiden Bestimmungsmethoden lässt sich die in Abbildung 34 dargestellte Korrelation erzeugen.

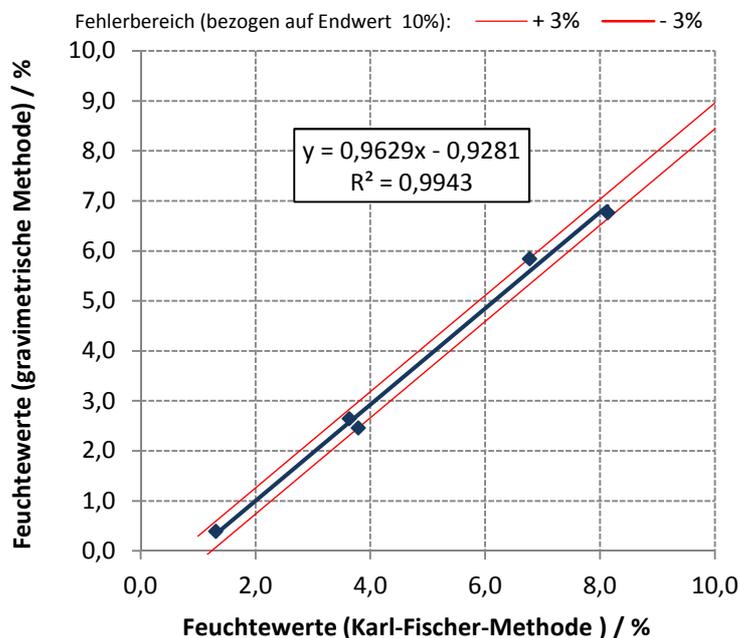


Abbildung 34: Korrelation zwischen den Feuchtegehalte von CP42 mittels Karl-Fischer und Trockenschrankmethode

Da die gefundene Korrelation sehr gut ist, lassen sich die Feuchtwerte leicht ineinander umrechnen. Die genaueren und zuverlässigeren Werte liefert in den vorliegenden Fällen die Karl-Fischer-Titrationsmethode.

Tabelle 31: Ergebnisse der Feuchtebestimmung von Sokalan HP56

Ergebnisse Sokalan HP56, <u>Karl- Fischer- Titration</u>											
Probenbezeichnung	Einheit	<i>TS20min</i>		<i>TS1h</i>		<i>KS30min</i>		<i>KS1,5h</i>		<i>Original</i>	
Feuchtegehalt (n=2)	%	3,01		1,06		5,48		7,38		3,99	
Standardabweichung (n=2)	%	0,02		0,02		0,01		0,03		0,02	
Variationskoeffizient (n=2)	%	0,63		1,73		0,12		0,42		0,41	
Ergebnisse Sokalan HP56, <u>Trockenschrankmethode</u>											
Masse Schale	g	39,755	43,735	52,420	43,034	43,702	44,553	45,579	46,906	45,900	46,783
Masse Produkt	g	1,013	1,050	1,016	1,072	1,024	1,018	1,013	1,066	1,037	1,033
Masse Schale + Rückstand	g	40,745	44,761	53,428	44,095	44,678	45,522	46,520	47,897	46,904	47,784
Masse Rückstand	g	0,990	1,026	1,008	1,061	0,976	0,969	0,941	0,991	1,004	1,001
Flüchtige Anteil	%	2,27	2,29	0,79	1,03	4,69	4,81	7,11	7,04	3,18	3,10
Mittelwert flüchtige Anteil	%	2,29		0,91		4,75		7,07		3,14	
Standardabweichung	%	0,01		0,17		0,09		0,05		0,06	
Variationskoeffizient	%	0,47		18,62		1,87		0,72		1,90	

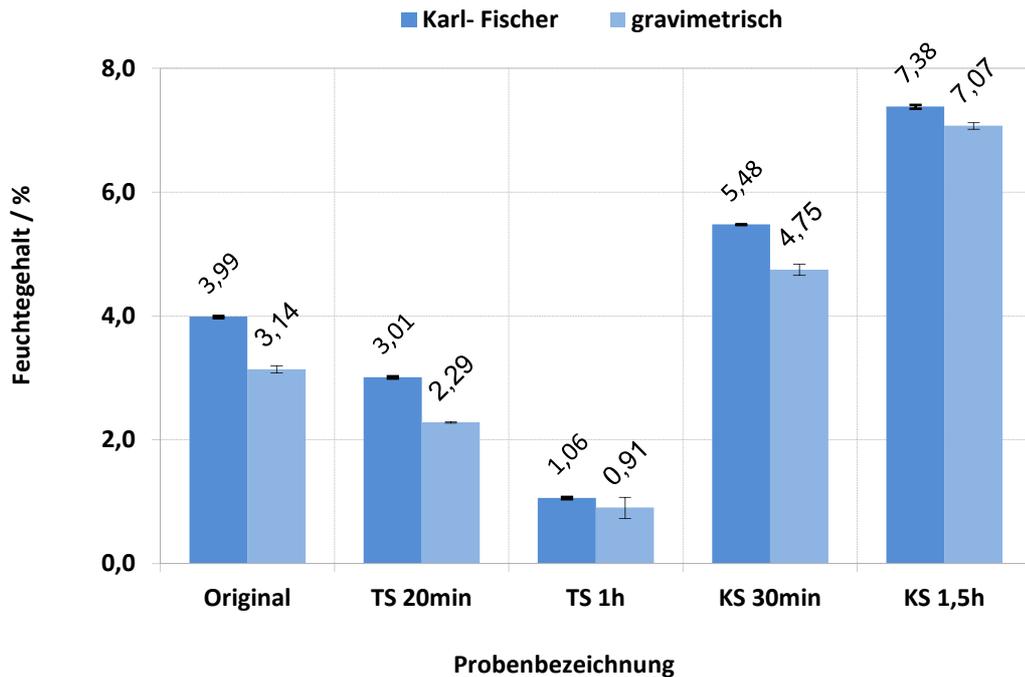


Abbildung 35: Ergebnisse der Feuchtebestimmung von Sokalan HP56

Beim Sokalan HP56 bietet sich ein ähnliches Bild (Abbildung 35) wie bei Sokalan CP42. Die Feuchtegehalte laut Trockenschrankmethode sind bei jeder Probe niedriger als die der Karl-Fischer Titration. Auch hier zeigt die Korrelation der Werte aus den zwei Methoden (Abbildung 36) sehr gut, dass eine einfache Umrechnung möglich ist.

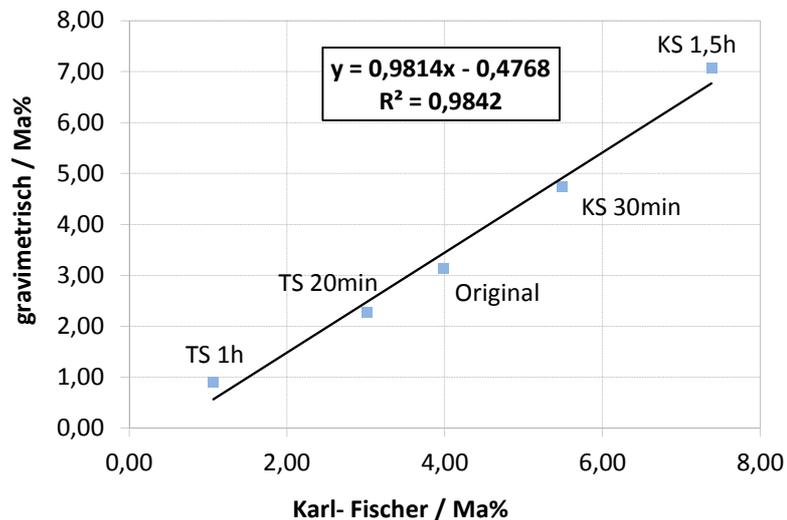


Abbildung 36: Korrelation zwischen den Feuchtegehalte von HP56 mittels Karl-Fischer und Trockenschrankmethode

Der große Nachteil der gravimetrischen Trockenschrankmethode ist, dass bei dieser Bestimmungsmöglichkeit sowohl die Bindungskräfte zwischen Wasser und Granulat als auch bei Anwesenheit anderer flüchtiger Komponenten einen großen Einfluss auf die Messergebnisse ausüben können. Leicht

flüchtige Bestandteile werden z.B. mit ausgetrieben und tragen damit einen entsprechenden Beitrag zum Gewichtsverlust bei, was zu entsprechenden Fehlern führt. Die Karl- Fischer- Methode berücksichtigt hingegen nur den Wasseranteil und ist bei sorgfältiger Durchführung sehr genau und gut reproduzierbar. Um genaue und reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, wurde vorgeschlagen, für die Kalibrierung ausschließlich die Ergebnisse der Karl- Fischer- Titration zu verwenden und die Messwerte des Sensors auf die Trockenschrankmethode umzurechnen.

Die auf die unterschiedlichen Feuchten eingestellten Proben wurden den Forschungspartnern IFA bzw. LLA zur Verfügung gestellt. Die mit den unterschiedlichen Messsystemen erhaltenen Daten sind den Berichten der Projektpartner zu entnehmen.

1.9 Untersuchungen mit der Labormessstrecke (AP 1.2., 1.3, 1.4)

Bevor die beiden Sensortypen in Wirbelschichtgranulatoren bei den Verbundpartnern integriert werden konnten, waren Untersuchungen zum Einfluss verschiedener Parameter auf die Messsignale erforderlich. Für diese Untersuchungen wurde eine Labormessstrecke (Abbildung 37) mit zwei Stützen für die beiden Sensoren entwickelt und angefertigt. Der Stützen für den NIR- Sensor befindet sich auf dem Bild an Anlagenrückseite. Über eine Steuereinheit kann die Drehzahl der Zentralschleuse und die Granulatgeschwindigkeit vor dem Sensor geregelt werden. Mit dieser Möglichkeit lässt sich unter anderem leicht der Einfluss der Granulatgeschwindigkeit auf die Messsignale bestimmen. Auch Untersuchungen zum Einfluss der Granulatfarbe, der Granulatgröße und der Schüttdichte konnte damit durchgeführt werden.

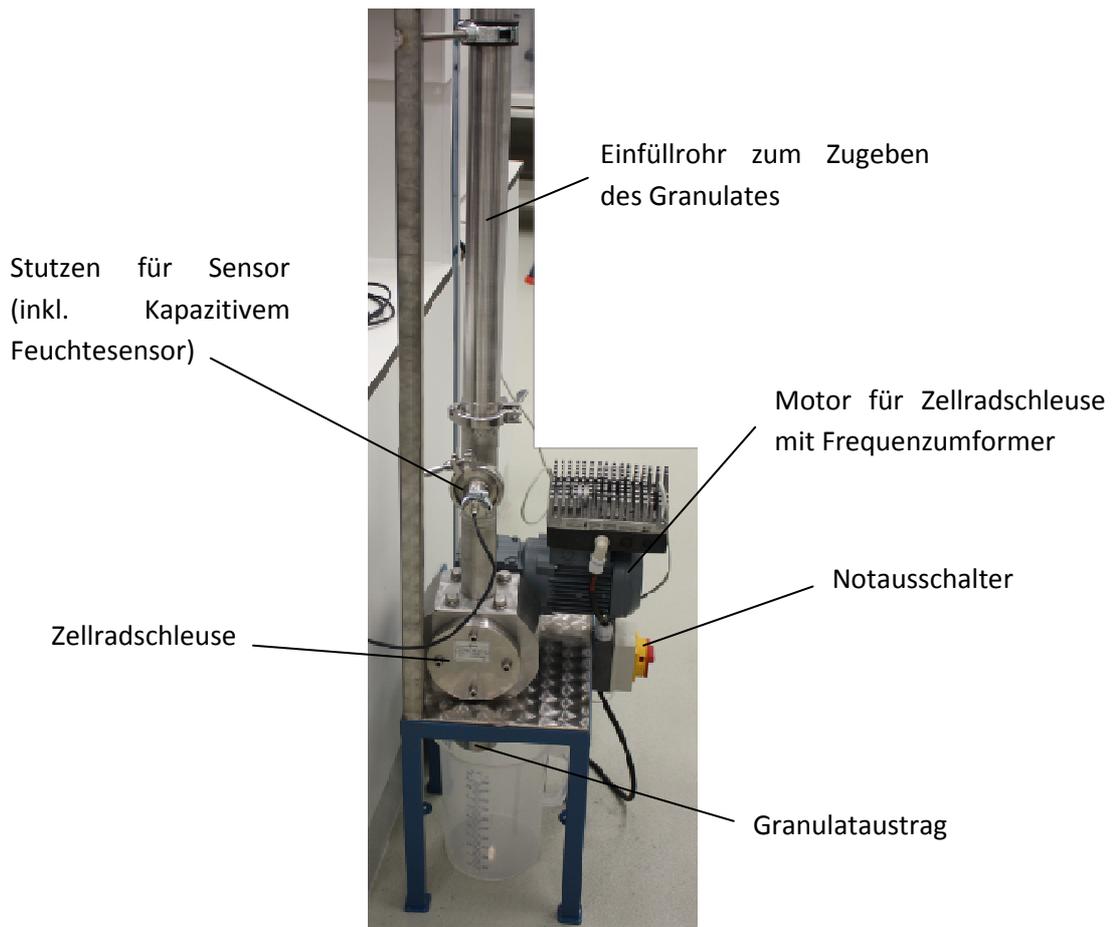


Abbildung 37: Labormessstrecke zur Feuchtemessung

In der Messstrecke sind Untersuchungen an:

- Maltodextrin- und
- Orangenölgranulate

durchgeführt worden. Proben von Orangenölgranulaten wurden auf drei unterschiedliche Feuchten eingestellt. Die Granulatbehandlung und deren Ergebnisse sind in der Tabelle 32 sowie in der Abbildung 38 enthalten. Die Bestimmung der Feuchte erfolgte mittels Karl- Fischer-Titration.

Die Messungen der Orangenölgranulate gestalteten sich als recht schwierig, da die Messsignale sehr stark streuten. Bei dem NIR- Sensor der Firma LLA war die Streuung wesentlich stärker ausgeprägt, als bei dem kapazitiven Feuchtesensor der Firma IFA. Es wurden verschiedene Parameter untersucht, bei denen ein Einfluss auf die Messungen vermutet wurde. So sind die Geschwindigkeit der Zentralschleuse und somit die Durchlaufgeschwindigkeit, die Schütthöhe des Granulates im Einfüllrohr und die Einfüllgeschwindigkeit untersucht worden. Auch reines Maltodextrin ist in der Labormessstrecke vermessen worden. Bei diesen Messungen konnten sowohl bei den IFA- Sensor als auch bei dem NIR- Sensor stabile Messsignale erzielt werden.

Tabelle 32: Ergebnisse der Feuchtemessungen der Orangenölgranulate mittels Karl- Fischer-Tiration vor und nach den Versuchen in der Labormessstrecke

	Einheit	Original	Trockenschrank	Trockenschrank
Behandlung		unverändert	100°C, 1h	100°C, 4h
Probenbezeichnung		<i>Origin.</i>	<i>TS1h</i>	<i>TS4h</i>
vor dem Einsatz in der Labormessstrecke				
Feuchtegehalt (n=2)	%	6,03	3,01	1,12
Standardabweichung	%	0,10	0,03	0,10
Variationskoeffizient	%	1,63	0,99	8,67
nach dem Einsatz in der Labormessstrecke				
Feuchtegehalt (n=2)	%	6,34	3,38	1,31
Standardabweichung	%	0,10	0,04	0,04
Variationskoeffizient	%	1,52	1,15	3,23

Die Maltodextrinprobe wurde unbehandelt eingesetzt. Die sich ergebende Feuchte stellt die normale Produktfeuchte ab Hersteller dar.

Um zu überprüfen, ob die Granulate während der Messung in der Labormessstrecke ihren Feuchtegehalt ändern, sind vor und nach den Messungen die Granulatfeuchten nach Karl- Fischer ermittelt worden (siehe Abbildung 38).

Im Ergebnis dieser Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass folgende Faktoren einen Einfluss auf die Messung der Feuchte und, im Fall des NIR- Sensors, auch der Wirkstoffgehalt ausüben:

- Schüttdichte des Granulates
- Korngröße der Granulate
- Korngrößenverteilung der Granulate
- Farbe der Granulate

Da die Korngröße einen entscheidenden Einfluss hat, wurde durch den Projektpartner eine Messsignalauswertungsmethode entwickelt, die die unterschiedlichen Partikelgrößen in der Kalibrierung der Sensoren berücksichtigt.

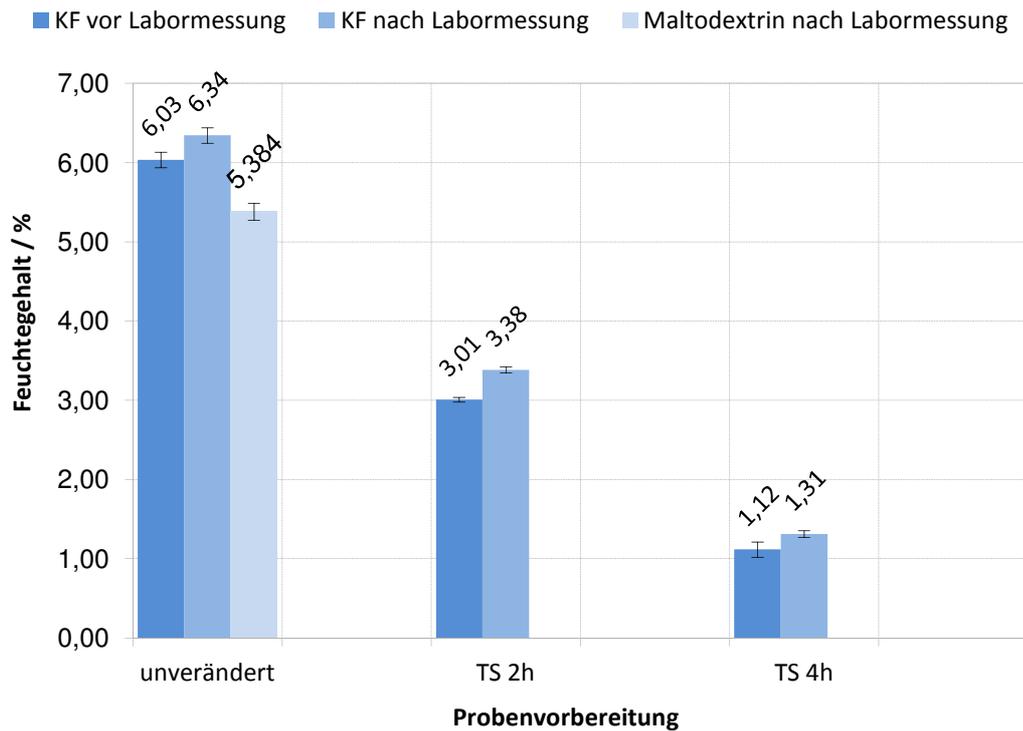


Abbildung 38: Ergebnisse der Feuchtemessung der Orangenöl- und Maltodextringranulate vor und nach dem Einsatz in der Labormessstrecke

Die Daten und Ergebnisse die mit den Sensoren erzielt wurden, sind den Abschlussberichten der jeweiligen Forschungspartner zu entnehmen.

1.10 Bestimmung der Lagerstabilität von Granulaten bzw. Ölen und Fette

Aus den Untersuchungsergebnissen des Teilvorhabens VV6 konnte abgeleitet werden, dass sowohl die Peroxidzahl (POZ) als auch die Anisidinzahl nicht zur Beurteilung der Qualität der lipophilen Bestandteile von solchen fetthaltigen Granulaten geeignet ist. Da aber die Kenntnis der Alterungsvorgänge solcher Substanzen wirtschaftlich von großer Bedeutung ist, musste nach alternativen Methoden gesucht werden. Da zur Bestimmung der Alterungsvorgänge bei Fetten und Ölen sich die Rancimatmethode sowohl national als auch international bewährt und etabliert hat, war es ein Ziel der Arbeiten im Rahmen des Vorhabens, diese Methode auf ihre Eignung zur Stabilitätsermittlung bei Granulaten mit entsprechenden lipophilen Anteilen zu testen und zu erweitern. Zum Einsatz dieser Methode für solche Untersuchungsziele konnten auch in der Fachliteratur keine Hinweise gefunden werden.

Als Messsystem für die erforderlichen Untersuchungen wurde der auch in der Wirtschaft anerkannte Rancimat der Firma Metrohm ausgewählt. Bei diesem automatisierten Messgerät werden die Öle (Proben) unter definierten thermischen Bedingungen gealtert und mit einem getrockneten Luftstrom beaufschlagt. Durch die thermische Belastung werden die Mehrfachbindungen in den Ölen zerstört und die dabei entstehenden flüchtigen Bestandteile mit dem Luftstrom in ein mit destilliertem Wasser gefüllten Behälter geleitet. Das Auflösen dieser Bestandteile führt zum Anstieg der Leitfähigkeit, die in Abhängigkeit der thermischen Belastungszeit der Probe auch ihren Anstieg verändert. Das Er-

reichen der Stabilitätsgrenze führt zu einem starken Anstieg der Leitfähigkeit. Die kennzeichnende Größe des Zerstörungszeitpunktes, die Induktionszeit, erhält man aus dem Schnittpunkt der linearisierten Verlängerung der beiden Funktionsverläufe (vor und nach der Fettschädigung). Die Induktionszeit ist damit ein Maß für die Stabilitätsbewertung. Eine kurze Induktionszeit deutet auf schnelle oxidative Schädigung und somit auf eine schlechte Qualität bzw. Stabilität hin. Eine lange Induktionszeit hingegen spiegelt eine hohe Qualität bzw. Stabilität der Fette/Öle wieder. Bei der Untersuchung bereits vorgeschädigter oder qualitativ schlechter Proben sind schon Reaktionsprodukte vorhanden und es kommt zu einem schnellen Anstieg an Zersetzungsprodukten. Demzufolge ändert sich auch die Leitfähigkeit in der Messzelle wesentlich schneller und die Induktionszeit sinkt.

Die Induktionszeit selbst ist abhängig vom Fettsäuremuster der jeweiligen Probe. So haben Fett oder Öle mit einem hohen Maß an ungesättigten und mehrfach ungesättigten Fettsäuren eine geringere Induktionszeit, da diese schneller oxidiert werden als gesättigte Fettsäuren. Die Abbildung 39 zeigt beispielhaft drei Ergebnisdiagramme des Rancimat. Bei den Proben handelt es sich um Butterschmalz, Schweineschmalz und Sonnenblumenöl, die in Vorversuchen getestet worden sind.

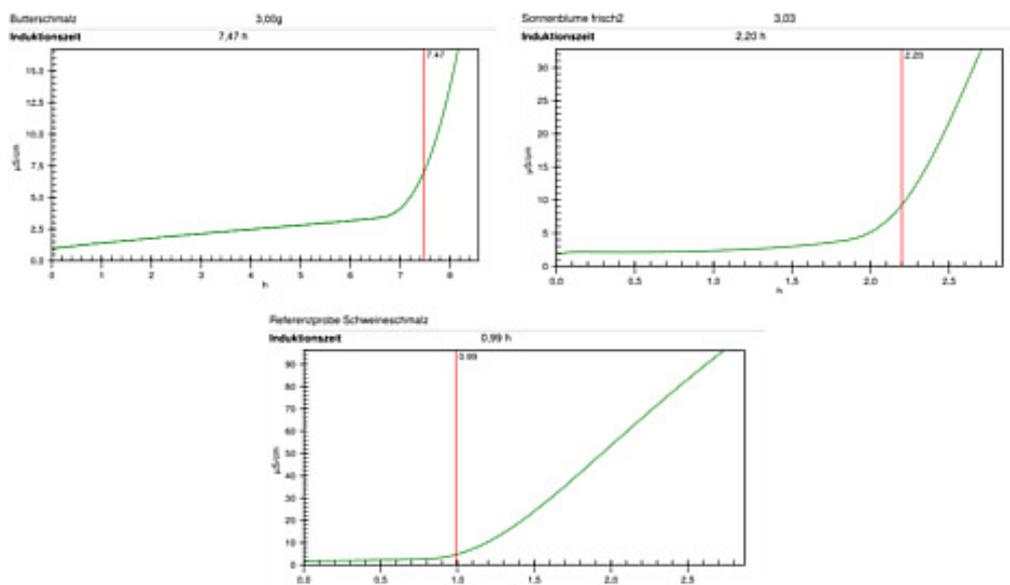


Abbildung 39: Rancimatdiagramm für Butterschmalz, Schweineschmalz (o.l.; o.r.) und Sonnenblumenöl (u.)

Die Untersuchungsergebnisse veranschaulichen sehr deutlich, dass sich die Kurven der einzelnen Proben in ihrem Verlauf unterscheiden. Dies ist auf die unterschiedlichen Fettsäuremuster zurückzuführen, was auch die ermittelten Induktionszeiten (rote Markierung) widerspiegeln. Schweineschmalz hat gefolgt vom Sonnenblumenöl die geringste Induktionszeit (0,9 bzw. 2,2 h), d.h. diese beiden Stoffe sind sehr anfällig gegen Schädigung durch thermische Belastung aber auch durch Lagerung. Die höhere Induktionszeit von 7,47 h des Butterschmalzes weist auf einen hohen Anteil an gesättigten Fettsäuren hin.

Auf der Basis der Rancimat-Methode wurden Untersuchungen mit verschiedenen Rohstoffen und Granulaten durchgeführt. Zur Bestimmung des Alterungsverhaltens der β -carotinhaltigen Rohstoffe wurden diese bei „normalen“ Umgebungsbedingungen (Raumluft und –temperatur sowie unter Lichteinfluss) über mehrere Wochen gelagert und in regelmäßigen Abständen von je einer Woche mittels Rancimatmethode vermessen. Da der β -carotinhaltige Rohstoff Sonnenblumenöl enthält, sind mit der Rancimatmethode nachvollziehbare und verwertbare Ergebnisse zu erwarten.

Als Untersuchungsmethode kam hierbei die von Metrohm entwickelte Standardmethode für Fette und Öle zum Einsatz. Die verwendeten Untersuchungsparameter sind in der folgenden Tabelle aufgelistet.

Tabelle 33: Methodenparameter für die Qualitäts-/ Stabilitätsbestimmung von Fetten und Ölen

Parameter	Einheit	Einstellung
Lager-/Messtemperatur der Proben im Heizblock des Rancimat	°C	120
ΔT (einstellbare Temp.-Differenz zur Kompensation von Wärmeverlusten)	°C	1,6
Durchsatz an getrockneter Luft durch die Messzelle	l/h	20
Stopp- Kriterium		Endpunkt

Die bei den Messungen erzielten Ergebnisse sind der Tabelle 34 zu entnehmen und der Abbildung 40 zu entnehmen.

Tabelle 34: Ergebnisse der Alterungsuntersuchungen mittels der Rancimat- Methode für den β -Carotin- Rohstoff

Probe	Behandlung	Messdatum	Lagerzeit (d)	Induktionszeit (h)
Referenz	Lagerung im Kühlschrank	12.02.2012	0	5,01
gelagerte Probe:				
Messzeitpunkt I	Lagerung in Petrischale; offen, bei Raumtemperatur, unter Lichteinfluss	20.02.2012	12	1,47
Messzeitpunkt II		27.02.2012	19	0,19
Messzeitpunkt III		05.03.2012	26	0,11
Messzeitpunkt IV		12.03.2012	33	0,02

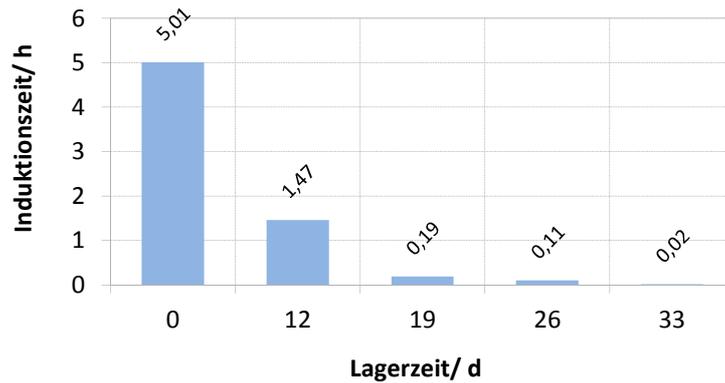


Abbildung 40: ermittelte Induktionszeiten in Abhängigkeit der Lagerzeit eines β - Carotin- Rohstoffes

Aus der obigen Abbildung wird deutlich, dass mit zunehmender Lagerzeit des β - Carotin- Rohstoffes die Induktionszeit stark sinkt. Dies weist auf eine entsprechend schnell Alterung des Rohstoffs bei Lagerung unter Raumbedingungen hin. Die antioxidative Kapazität des β - Carotins führt zu einer Verbesserung der Oxidationsstabilität des im Rohstoff enthaltenen Sonnenblumenöls. Die Induktionszeit von reinem frischem Sonnenblumenöl ist zum Vergleich der nachfolgenden Abbildung zu entnehmen. Es wurde eine Induktionszeiterhöhung von 2,20 h bei reinem Sonnenblumenöl und auf 5,01 h bei β - carotinhaltigen Sonnenblumenöl erzielt.

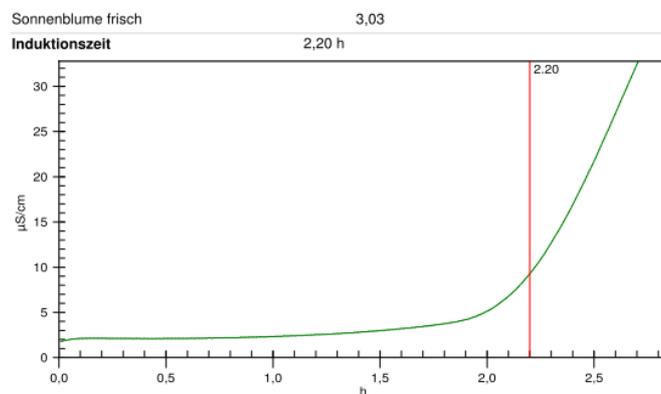


Abbildung 41: Rancimat-Messergebnis von frischem reinem Sonnenblumenöl

In halblogarithmischer Darstellung ergibt sich aus den Messergebnissen mit dem β - carotinhaltigen Sonnenblumenöl der in Abbildung 42 dargestellte lineare Verlauf.

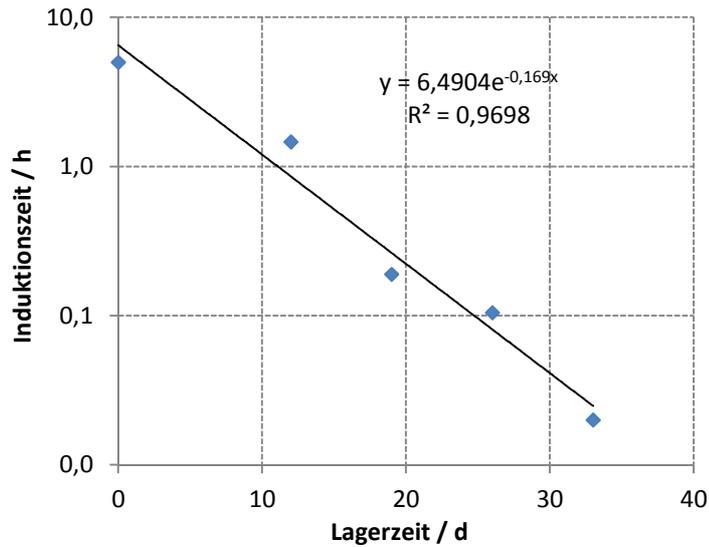


Abbildung 42: Ergebnisse der Rancimat- Methode für den β - Carotin- Rohstoff

Die Untersuchung eines bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von mehreren Wochen gelagerten Granulates, welches unter Verwendung des oben untersuchten Rohstoffes hergestellt worden ist, zeigt die nachfolgende Abbildung. Solche Arrhenius-Abhängigkeiten sind für natürliche Prozesse üblich, so dass die gefundene Abhängigkeit von dieser Seite nicht widersprüchlich ist.

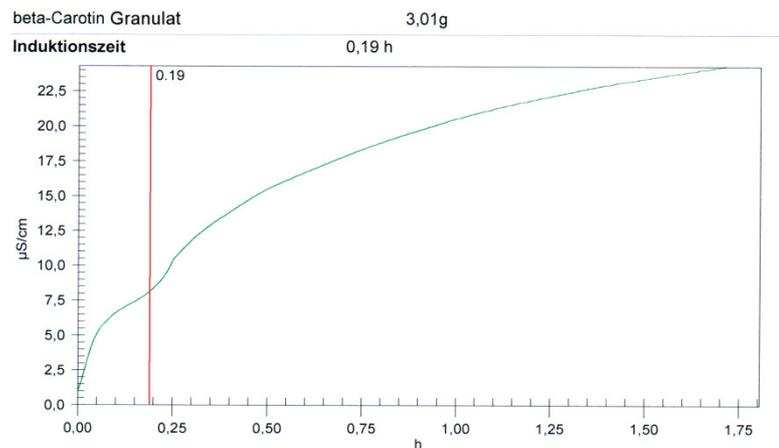


Abbildung 43: Rancimat-Messergebnis eines gelagerten β - carotinhaltigen Granulates

Die ermittelte Induktionszeit liegt in der gleichen Größenordnung wie die nach 33 tägiger Lagerung beim β - carotinhaltigen Sonnenblumenöl. Der gefundene Funktionsverlauf in Abbildung 43 ist atypisch im Vergleich zu den Ergebnissen bei den Fetten und Ölen. Um den Funktionsverlauf zu überprüfen, wurden weitere Granulate im Rancimat vermessen.

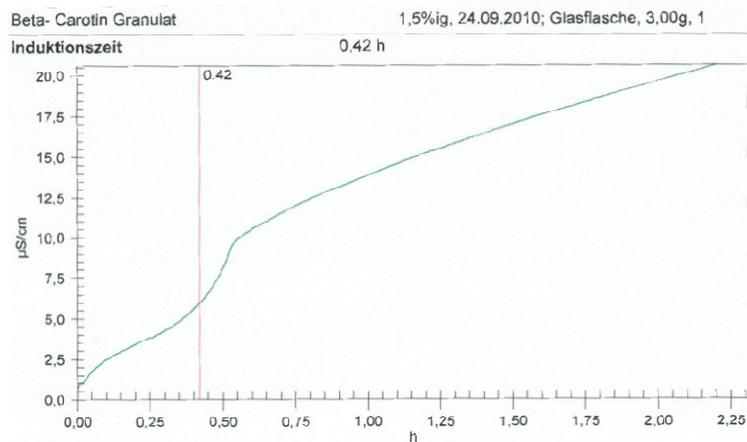


Abbildung 44: Ranimat- Messergebnisse für gelagertes β - carotinhaltiges Granulates (Produktionsdatum 24.09.2010), gelagert in Glasflasche

In der Abbildung 44 ist der Verlauf eine gelagerten β - carotinhaltigen Granulates dargestellt. Diese Granulat wurde am 24.09.2010 hergestellt und in einer gasdichten Braunglasflasche unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur gelagert. Der Graphenverlauf ist dem aus der Abbildung 43 sehr ähnlich. Daraus lässt sich ableiten, dass dieser Kurvenverlauf, für in Sonnenblumenöl gelöstes und verkapselte β - Carotin, typisch ist. Zur Aufklärung dieses Verhaltens wären weitere Untersuchungen erforderlich, die im Rahmen des Vorhabens nicht mehr durchgeführt werden konnten.

Um den Einfluss der Wirkstoffkonzentration auf die Lagerzeit bei β - Carotin- Granulate abschätzen zu können, wurden verschiedene Granulate (0,2% und 1,5% β - Carotin im Granulat) unter den obengenannten Bedingungen gelagert. Die Ergebnisse können der Abbildung 45 entnommen werden.

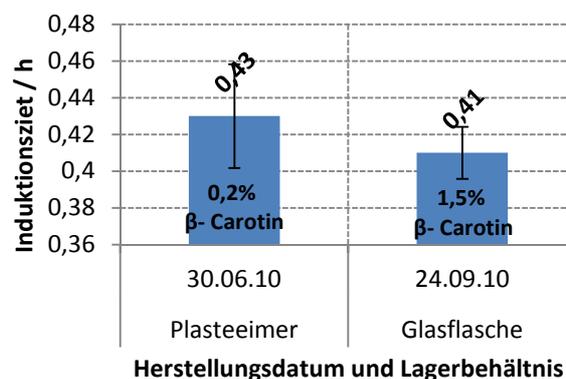


Abbildung 45: Vergleich zweier gelagerter β - carotinhaltiger Granulate (Messzeitpunkt Juli 2012)

Trotz eines Konzentrationsunterschiedes von 1,3% und einer Differenz in der Lagerzeit von drei Monaten können keine signifikanten Unterschiede der Induktionszeiten festgestellt werden. Zu erwarten wäre eigentlich eine etwas größere Inkubationszeit bei dem Versuch mit 1,5 % Carotin gewesen. Die Ursache sind mit großer Wahrscheinlichkeit auf den atypischen Funktionsverlauf und die schon stark vorangeschrittene Alterung der Öl in den Granulaten zurückzuführen. Detailliertere

Aussagen wären erst nach weitem umfangreichen Untersuchungen möglich. Diese konnten aufgrund des zeitlichen Fortschreitens des Projektes nicht mehr durchgeführt werden.

Zur Überprüfung der Eignung dieser Methode für andere Substanzen, zum Beispiel Aromaöle, wurden Versuche mit Orangenöl durchgeführt. Diese Versuche erbrachten bislang keine befriedigenden Ergebnisse. Beim Erhitzen des Orangenöls im Rancimat werden sehr aggressive Substanzen mit dem Luftstrom in die Messzelle gefördert. Bei Verwendung von Messzellen aus Polykarbonat zeigten sich starke Veränderungen an dieser. Aus diesem Grund wurden für die nachfolgenden Messungen Messzellen aus Glas verwendet.

Beim Orangenöl betrug die mit der Standardmethode gemessene Induktionszeit 0,02h. Der gezeigte Funktionsverlauf ist auch hier untypisch im Vergleich zu denen bei Ölen und Fetten. Eine mögliche Ursache dafür könnte das Austreiben leichtflüchtiger Komponenten und der damit verbundenen schnelle Anstieg der Leitfähigkeit sein. Dieser führte möglicherweise zum vorzeitigen Versuchsabbruch und damit zu den scheinbar sehr kleinen Induktionszeiten (siehe Abbildung 46 linke Abbildung). Bei der Vermessung von bereits gelagerten Orangenölgranulaten kam es zu dem in Abbildung 46 rechte Darstellung) gezeigten Kurvenverlauf. Die gefundene hohe Stabilität ist nicht unrealistisch, da die Verwendung der eingesetzten Matrixmaterialien einen schnellen intensiven Sauerstoffkontakt der im inneren der Granulate eingeschlossenen Orangenöltröpfchen und die damit verbundene Oxidation verhindert. Aber auch hier wären zur Aufklärung der genauen Sachverhalte tiefgründige, sehr zeitaufwendige Untersuchungen notwendig.

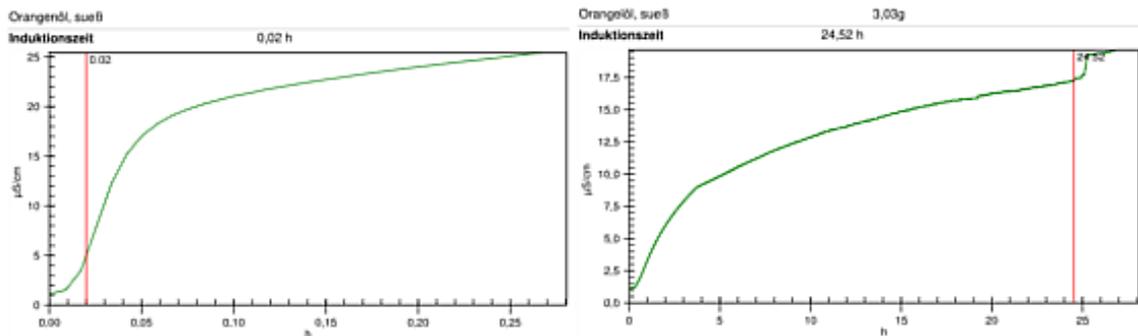


Abbildung 46: Rancimat- Kurvenverlauf für Orangenöl (links) und orangeneölhaltige Granulate (rechts)

Zusammenfassend lässt sich aus den bisher erzielten Ergebnissen festhalten:

- Der Verlauf des Alterungsprozesses von öl- und fetthaltigen Granulaten lässt sich mit der Rancimatmethode verfolgen.
- Die Messergebnisse aromaölhaltiger Granulate weisen darauf hin, dass auch unter Umständen auch hier verwertbare Ergebnisse erhalten werden können. Mit dem bisher vorliegenden Datenmaterial können aber dazu noch keine gesicherten Aussagen getroffen werden. Es wären weitere Untersuchungen in der gesamten Breite, beginnend mit der Granulatherstellung mit frischen Ölen, deren Lagerung bei unterschiedlichen Bedingungen sowie der Optimierung der Messmethoden unter Verwendung der neuen Granulate erforderlich. Dafür war die nach der Anschaffung des Gerätes noch zur Verfügung stehende Zeit nicht mehr ausreichend. Die insge-

samt mit dem Gerät erzielten Ergebnisse sind aber vielversprechend und bilden die Grundlage für weitere Untersuchungen.

Zusammenfassung und Ergebnissbewertung des Vorhabens

Die im Arbeitsplan fixierten Schwerpunkte sind in ihren Hauptzielstellungen im Rahmen des Bearbeitungszeitraums erfolgreich realisiert worden. Auf der Basis der in den jeweiligen Bearbeitungsetappen erzielten Ergebnisse fand in einzelnen Arbeitspaketen eine Wichtung und Modifizierung der Schwerpunkte statt und es wurden zusätzliche Aufgabenstellungen erfolgreich bearbeitet, die den Gesamterfolg des Vorhabens abrunden.

2. wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Die im Rahmen des Verbundvorhabens für den Projektpartner Hochschule Anhalt/ AG IBAS geplanten finanziellen Mittel wurden für die erfolgreiche Bearbeitung des Teilvorhabens im vollen Umfang benötigt. Für die durch eine notwendige Umbesetzung eines Mitarbeiters in Verbindung mit der Zeit der Nichtbesetzung frei gewordenen Personalmittel wurde nach Antrag auf Umwidmung und dessen Genehmigung ein Rancimat angeschafft. Die Überziehung einzelner Kostenarten lag unterhalb der genehmigungspflichtigen 20% Grenze.

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die im Rahmen des Verbundvorhabens 1 im Teilvorhaben 1 durchgeführten Forschungs- und Entwicklungsarbeiten waren für die erfolgreiche Bearbeitung des Vorhabens zwingend notwendig und angemessen. Ohne die von IBAS erbrachten Leistungen hätten die Verbundpartner einen entscheidenden Teil ihrer Arbeiten nicht durchführen können.

4. voraussichtlicher Nutzen - Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die im Rahmen des Vorhabens zu untersuchende Eignung der beiden indirekten Messverfahren (kapazitiver Feuchtesensor, NIR-Verfahren) zur Bestimmung der Granulatfeuchte und/oder der Wirkstoffgehalte in den Granulaten in Wirbelschichtgranulationsprozessen macht eine Kalibrierung der Systeme unter Verwendung von Referenzanalysedaten erforderlich. Für letztere wurden an der Hochschule Anhalt / AG IBAS die erforderlichen Methoden entwickelt und validiert. Die eigentliche Wertschöpfung dieser Forschungs- und Entwicklungsergebnisse findet mit der Integration der neuen Messsysteme in neue oder bestehende Anlagen durch die Projektpartner 2 und 3 statt. Für jede Installation ist aber die Durchführung referenzanalytischer Untersuchungen erforderlich, so dass darüber auch für die Hochschule ein entsprechender materieller Nutzen entstehen könnte. Als immaterieller Nutzen des Vorhabens für die Hochschule wäre die Kompetenzerweiterung der Arbeitsgruppe, die Einbindung der Ergebnisse in die Lehre und Ausbildung sowie die Anfertigung künftiger Bachelor- und Masterarbeiten auf diesem Gebiet zu nennen.

Die Verwertung der Ergebnisse im Sinne des Fortschreibungsplanes kann nur durch die Projektpartner initiiert und realisiert werden.

5. während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordenen Fortschritts auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Auf dem Gebiet der Referenzanalytik sind während des Vorhabens apparate- und auswertungstechnisch keine signifikanten Fortschritte veröffentlicht worden.

6. erfolgte und/oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Im Rahmen des Vorhabens sind angefertigt worden:

- 2 Bachelorarbeiten
- 1 Masterarbeit und
- 1 Projektarbeit.

Außer diesem sind Ergebnisse der Forschungs- und Entwicklungsarbeiten vorgestellt worden auf:

- Anuga Forum März 2012 in Köln
- Analytika 2012
- Verbundtreffen WIGRATEC, September 2011 in Barleben.

Geplant ist eine Veröffentlichung in einer Fachzeitschrift zu einem speziellen Analyseverfahren zur parallelen Bestimmung von drei, zum Teil sehr unterschiedlichen Wirkkomponenten in Granulaten.

Solche, wie im Vorhaben entwickelten Analyseverfahren sind nicht patentfähig.

III. "Kurzfassung" (Berichtsblatt) des wesentlichen fachlichen Inhalts des Schlussberichts

Siehe "Kurzfassung" (Berichtsblatt) des wesentlichen fachlichen Inhalts des Schlussberichts

Berichtsblatt im Anhang!