

**RAMAN-SPEKTROSKOPIE UND ATMOSPHERISCHE  
RASTERELEKTRONENMIKROSKOPIE**  
-  
**CHARAKTERISIERUNG PHARMAZEUTISCHER HILFSSTOFFE**



**Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt der

Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät  
(mathematisch-naturwissenschaftlicher Bereich)  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Frau Dipl.-Pharm. Petra Monika Fechner

geb. am 17.12.1974 in Jena

Gutachter

1. Prof. Dr. rer. nat. habil. Dr. h. c. R. H. H. Neubert
2. Prof. Dr. rer. nat. habil. P. Kleinebudde
3. Dr. rer. nat. habil. A. Heilmann

Halle, 08.12.2005

**urn:nbn:de:gbv:3-000009811**

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000009811>]

**INHALTSVERZEICHNIS**

Abkürzungsverzeichnis .....	iii
Symbolverzeichnis .....	iv
<b>1 Einleitung und Zielstellung .....</b>	<b>1</b>
<b>2 Raman-Spektroskopie .....</b>	<b>4</b>
2.1 Einführung in die Spektroskopie.....	4
2.2 Molekülschwingungen .....	5
2.3 Theoretische Grundlagen .....	6
2.3.1 Der Raman-Effekt.....	6
2.3.2 Polarisierbarkeit eines Moleküls .....	8
2.3.3 Fourier-Transformation.....	8
2.4 NIR FT-Raman-Spektroskopie .....	10
2.5 Vor- und Nachteile der Raman-Spektroskopie .....	11
2.5.1 Vorteile .....	11
2.5.2 Nachteile .....	12
2.6 Einsatzgebiete der Raman-Spektroskopie.....	12
2.7 Das Bruker FT-Raman-Spektrometer RFS 100/S .....	13
<b>3 Atmosphärische Rasterelektronenmikroskopie .....</b>	<b>15</b>
3.1 Einführung.....	15
3.1.1 Grundlagen der Elektronenmikroskopie .....	15
3.1.2 Vor- und Nachteile der Elektronenmikroskopie.....	15
3.2 Konventionelle Rasterelektronenmikroskopie .....	16
3.2.1 Aufbau eines konventionellen Rasterelektronenmikroskops .....	16
3.2.2 Mögliche Wechselwirkungen der Elektronen .....	17
3.3 Atmosphärische Rasterelektronenmikroskopie.....	17
3.3.1 Aufbau, Besonderheiten und Funktionsweise des atmosphärischen Rasterelektronenmikroskops.....	17
3.3.2 Vor- und Nachteile der ESEM-Technik.....	20
3.4 Verwendung der ESEM-Technik.....	21
<b>4 Pharmazeutische Hilfsstoffe .....</b>	<b>22</b>
4.1 Cellulosen.....	22
4.1.1 Mikrokristalline Cellulose und Pulvercellulose.....	23
4.1.2 Hydrophile Celluloseether .....	25
4.1.3 Raman-spektroskopische Untersuchungen an Cellulosen und deren Derivaten .....	26
4.2 Stärken .....	27
4.2.1 Amylose .....	28
4.2.2 Amylopektin.....	29
4.2.3 Aufbau der Stärkekörner und besondere Eigenschaften .....	29

4.2.4 Bedeutung des Wassers.....	30
4.2.5 Stärkefilme .....	34
4.2.6 Handelsübliche Stärken und ihre Verwendung in der pharmazeutischen Technologie .....	35
4.2.7 Raman-spektroskopische Untersuchungen an Stärken.....	35
<b>5 Ergebnisse.....</b>	<b>37</b>
5.1 Allgemeiner Vergleich.....	37
5.2 Extrusion/Sphäronisation von Cellulosen (Anlage 8.1) .....	39
5.3 Wechselwirkungen von Wasser mit verschiedenen Celluloseethern (Anlage 8.2).....	40
5.4 Retrogradation verschiedener Stärken (Anlage 8.3) .....	42
5.5 Einfluss von Wasser auf die molekulare und morphologische Struktur von Stärken (Anlage 8.4).....	43
<b>6 Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>45</b>
<b>7 Literatur.....</b>	<b>46</b>
<b>8 Anlage (veröffentlichte Originalarbeiten) .....</b>	<b>61</b>
8.1 P. M. FECHNER, S. WARTEWIG, M. FÜTING, A. HEILMANN, R. H. H. NEUBERT, P. KLEINEBUDDE (2003). Properties of microcrystalline cellulose and powder cellulose after extrusion/spheronization as studied by Fourier transform Raman spectroscopy and environmental scanning electron microscopy. AAPS PharmSci 5(4), Artikel 31.	
8.2 P. M. FECHNER, S. WARTEWIG, A. KIESOW, A. HEILMANN, P. KLEINEBUDDE, R. H. H. NEUBERT (2005). Interaction of water with different cellulose ethers: a Raman spectroscopy and environmental scanning electron microscopy study. Journal of Pharmacy and Pharmacology 57(6), 1-10.	
8.3 P. M. FECHNER, S. WARTEWIG, P. KLEINEBUDDE, R. H. H. NEUBERT (2005). Studies of the retrogradation process for various starch gels using Raman spectroscopy. Carbohydrate Research 340, 2563-2568.	
8.4 P. M. FECHNER, S. WARTEWIG, A. KIESOW, A. HEILMANN, P. KLEINEBUDDE, R. H. H. NEUBERT (2005). Influence of Water on the Molecular and Morphological Structure of Various Starches and Starch Derivatives. Starch/Stärke 57, 605-615.	

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

DAB	Deutsches Arzneibuch
DP	durchschnittlicher Polymerisationsgrad ( <i>degree of polymerisation</i> )
DS	durchschnittlicher Substitutionsgrad ( <i>degree of substitution</i> )
DSC	dynamische Differenzkalorimetrie ( <i>differential scanning calorimetry</i> )
DTA	Differenzthermoanalyse ( <i>differential thermal analysis</i> )
ESD	atmosphärischer Sekundärelektronendetektor ( <i>environmental secondary electron detector</i> )
ESE	atmosphärisches Sekundärelektron ( <i>environmental secondary electron</i> )
ESEM	atmosphärische Rasterelektronenmikroskopie ( <i>environmental scanning electron microscopy</i> )
EuAB	Europäisches Arzneibuch
FT	Fourier-Transformation
HPC	Hydroxypropylcellulose
HPMC	Hydroxypropylmethylcellulose
IR	Infrarot
JP	Japanisches Arzneibuch ( <i>Japanese Pharmacopoeia</i> )
KI	Kristallinitätsindex
LaB <sub>6</sub>	Lanthanhexaborid
LASER	Lichtverstärkung durch induzierte Strahlungsemission ( <i>light amplification by stimulated emission of radiation</i> )
MC	Methylcellulose
MCC	mikrokristalline Cellulose ( <i>microcrystalline cellulose</i> )
Nd:YAG	Neodym-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat
Nd:YLF	Neodym-dotierter Yttrium-Lithium-Fluorid
NIR	nahes Infrarot
NMR	magnetische Kernresonanz ( <i>nuclear magnetic resonance</i> )
PC	Pulvercellulose
PE	Primärelektron
RE	Rückstreuelektron
REM	Rasterelektronenmikroskopie ( <i>scanning electron microscopy</i> , SEM)
SE	Sekundärelektron
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie ( <i>transmission electron microscopy</i> )
USP	Arzneibuch der USA ( <i>United States Pharmacopoeia</i> )
UV	Ultraviolett

**SYMBOLVERZEICHNIS**

$\alpha$	Polarisierbarkeit
$c$	Lichtgeschwindigkeit [im Vakuum $2,998 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$ ] Konzentration [%]
$d$	Schichtdicke [cm]
$\delta$	Deformationsschwingung $\delta_{sym}$ symmetrisch $\delta_{as}$ asymmetrisch
$E$	Energie [N m; J] Energie [1 eV = $1,602 \cdot 10^{-19}$ J] elektrische Feldstärke [ $\text{V m}^{-1}$ ]
$\Gamma$	out-of-plane-Schwingung $\Gamma_{sym}$ symmetrisch $\Gamma_{as}$ asymmetrisch
$h$	Planck-Konstante [ $6,626 \cdot 10^{-34} \text{ J s} = 4,136 \cdot 10^{-15} \text{ eV s}$ ]
$I$	Intensität
$\lambda$	Wellenlänge [m]
$\mu$	Dipolmoment [C m]
$M$	molare Masse [ $\text{g mol}^{-1}$ ]
$M_r$	relative molare Masse
$N$	Atomzahl eines Moleküls
$\nu$	Frequenz [Hz] Valenzschwingung $\nu_{sym}$ symmetrisch $\nu_{as}$ asymmetrisch
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl [ $\text{cm}^{-1}$ ]
$p$	Druck [Pa]
$P$	elektrische Leistung [W]
pH	pH-Wert, negativer dekadischer Logarithmus der Hydroniumionenkonzentration
$t$	Zeit [s]
$T$	Temperatur [K]
$\vartheta$	Temperatur [ $^{\circ}\text{C}$ ]
$U$	elektrische Spannung [V]
$v$	Schwingungsquantenzahl Geschwindigkeit [ $\text{m s}^{-1}$ ]

# 1 EINLEITUNG UND ZIELSTELLUNG

Unter pharmazeutischen Hilfsstoffen versteht man die für die Wirksamkeit mitverantwortlichen, aber arzneilich unwirksamen Bestandteile galenischer Zubereitungen. Sie stellen keine einheitliche Stoffklasse dar, sondern umfassen eine große Anzahl organischer und anorganischer Verbindungen. Die unterschiedlichen galenischen Anforderungen bedürfen geeigneter pharmazeutischer Hilfsstoffe, deren gleich bleibende Produktqualität aber oft nicht gewährleistet ist. Vor allem Hilfsstoffe aus natürlichen Rohmaterialien schwanken in ihren Eigenschaften wie Kristallinität, Partikelgröße oder chemischer Zusammensetzung, was Auswirkungen auf die Eigenschaften einer daraus hergestellten Arzneiform haben kann. Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass die Qualität eines Hilfsstoffes von Hersteller und Charge abhängig ist, wobei neben den Ausgangsmaterialien auch die Produktionsprozesse und der Produktionsstandort einen entscheidenden Einfluss haben [BAEHR et al. 1991, LANDIN et al. 1993a,b,c, ROWE et al. 1994].

Zu den speziellen Eigenschaften, mit denen Haufwerke pharmazeutischer Feststoffe charakterisiert werden, zählen in erster Linie das Fließverhalten, die spezifische Oberfläche, die Porosität und die Porengrößen. Zusätzlich ist es notwendig, die Einzelpartikel in Form und Größe zu beschreiben, wofür die Siebanalyse, die Laserlichtstreuung (*laser light scattering*) sowie die Licht- und Elektronenmikroskopie in Kombination mit speziellen Bildauswerteverfahren zur Verfügung stehen. Thermische Methoden wie DTA (*differential thermal analysis*), DSC (*differential scanning calorimetry*) und Thermogravimetrie unterstützen die Beurteilung der Reinheit und erfassen auftretende polymorphe Strukturen, Solvatisierung, Abbauerscheinungen/-vorgänge und Hilfsstoff(un)verträglichkeiten. Für die Klärung von kristallographischen Fragestellungen eines Pulvers wird häufig die Röntgendiffraktometrie verwendet. Molekulare Untersuchungen von Hilfsstoffen werden vor allem mit spektroskopischen Methoden wie der IR- und NMR-Spektroskopie durchgeführt [BRITTAIN et al. 1991, GUSTAFSSON 2000]. In diesem Zusammenhang hat sich in den letzten Jahren auch die Raman-Spektroskopie in der pharmazeutischen Forschung etablieren können. Seit 2002 ist sie als offizielle Methode in das Europäische Arzneibuch aufgenommen [EUAB 2002]. Vor allem polymorphe Umwandlungen von Arzneistoffen in galenischen Zubereitungen infolge veränderter Herstellungsbedingungen oder infolge der geringen Stabilität von Wirkstoffmodifikationen werden mit dieser Methode untersucht [TAYLOR und ZOGRAFI 1998]. Weiterhin dient die Raman-Spektroskopie der Identifizierung von Substanzen, der Quantifizierung von Inhaltsstoffen sowie der Untersuchung von Rekristallisationsprozessen [VANKEIRSBILCK et al. 2002]. Gerade bei der Erforschung der Gitter- oder Gerüststruktur wird die Raman-Spektroskopie gegenüber der IR-Spektroskopie bevorzugt [BUGAY 2001].

Die Raman-Spektroskopie bietet den entscheidenden Vorteil der zerstörungsfreien Untersuchung von Proben aller Aggregatzustände sowie wasserhaltiger Proben ohne aufwendige Probenpräparation. Durch Variation der Umgebungsbedingungen, wie Wassergehalt/Feuchte, Temperatur und Druck, können die verschiedensten physikalischen Zustände (verdünnte oder konzentrierte Lösungen, Gele, flüssig-kristalline Proben oder feste Materialien) oder das Verhalten der Proben in Abhängigkeit dieser Bedingungen untersucht werden.

Die Elektronenmikroskopie findet wie bereits erwähnt ihre Anwendung zur morphologischen Charakterisierung pharmazeutischer Hilfsstoffe. Neben der ausschließlichen Visualisierung ergibt sich mit der Technik der atmosphärischen Rasterelektronenmikroskopie (ESEM) die Möglichkeit, *in situ*-Experimente durchzuführen. Im Gegensatz zur konventionellen Elektronenmikroskopie ist die unkomplizierte Untersuchung flüssigkeits- oder gashaltiger Proben im unpräparierten Zustand möglich. ESEM erlaubt, Veränderungen im sublichtmikroskopischen Bereich bei Änderung der atmosphärischen Randbedingungen (Druck, Temperatur, Feuchte) in Echtzeit zu verfolgen, wobei das Auflösungsvermögen der Elektronenmikroskopie genutzt wird. Daher kann sie zur Charakterisierung verschiedener pharmazeutischer Hilfsstoffklassen sowie biologischer Systeme herangezogen werden. Die Einflüsse unterschiedlicher Umgebungsatmosphären auf Materialeigenschaften sowie auf den morphologischen Zustand einer Probe wurden bereits auf anderen, nichtpharmazeutischen Gebieten angewendet. Katalysatoren und Materialien wie Zement sowie biologische Proben, zu denen auch intakte Zellen gehören, werden mithilfe der ESEM-Technik untersucht. Bei diesen Experimenten wird der Vorteil, feuchte, flüssigkeitshaltige oder flüssige Proben im Gleichgewicht mit den Umgebungsbedingungen untersuchen zu können, gezielt genutzt [HOPFE und FÜTING 1995]. Strukturuntersuchungen an pharmazeutischen Hilfsstoffen mittels ESEM werden bisher nur selten vorgenommen. So untersuchten zum Beispiel WILHELM et al. [WILHELM et al. 2002] Stärkesuspensionen unter Verwendung der atmosphärischen Rasterelektronenmikroskopie.

Die parallele Verwendung von Raman-Spektroskopie und Elektronenmikroskopie [MILLAR et al. 1998, JÄHN 2002] ermöglicht eine zeitgleiche Untersuchung molekularer und morphologischer Eigenschaften und stellt einen entscheidenden Vorteil und eine Vereinfachung der Untersuchungen dar. Die Realisierung einer Kopplung von konfokalem Raman-Mikroskop und konventionellem Rasterelektronenmikroskop erfolgte durch AKSENOV et al. [AKSENOV et al. 2001].

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Erweiterung der Anwendungsbereiche der Raman-Spektroskopie und der atmosphärischen Rasterelektronenmikroskopie auf dem Gebiet der pharmazeutisch-technologischen Forschung. Stärken und Cellulosen als pharmazeutische Hilfsstoffklassen wurden ausgewählt, um deren Eigenschaften und Veränderungen mithilfe beider Methoden zu charakterisieren. Mögliche Korrelationen zwischen molekularen und morphologischen Eigenschaften sollten untersucht und mit physikochemischen Eigenschaften der Stoffe in Beziehung gesetzt werden. Im Hinblick auf eine eventuelle Kopplung der beiden Geräte wurden möglichst gleichwertige Umgebungsbedingungen bei Raman-Spektroskopie und ESEM-Experimenten angestrebt.

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden bei verschiedenen wissenschaftlichen Zeitschriften eingereicht und die vorliegende Arbeit kumulativ verfasst. In den Kapiteln 2 und 3 werden die verwendeten Methoden, die Raman-Spektroskopie und die atmosphärische Rasterelektronenmikroskopie, vorgestellt. Anschließend wird auf die einzelnen Substanzklassen, die Cellulosen und Stärken, eingegangen (Kapitel 4). Im Ergebnisteil (Kapitel 5) werden die Veröffentlichungen zusammengefasst und in Kapitel 6 eine Kurzzusammenfassung der Arbeit und ein Ausblick gegeben.



## 2 RAMAN-SPEKTROSKOPIE

In diesem Kapitel werden zunächst die verschiedenen Begriffe, die im Zusammenhang mit der Raman-Spektroskopie auftreten, erklärt und das verwendete NIR FT-Raman-Spektrometer RFS 100/S von Bruker vorgestellt.

### 2.1 Einführung in die Spektroskopie

Die Untersuchung der Natur der Teilchen mithilfe der Wechselwirkung zwischen elektromagnetischer Strahlung und Materie wird allgemein als Spektroskopie bezeichnet [FREUDE 2003a]. Aufgrund der weitgehenden und umfassenden Verbreitung der spektroskopischen Methoden ist allgemeine Literatur zum Thema Spektroskopie ausreichend vorhanden, die als Informationsquelle zu diesem Abschnitt dienen [BANWELL und MCCASH 1999, COLTHUP et al. 1990, GÜNZLER und GREMLICH 2003, KERESZTURY 2002, LONG 2002, SCHRADER 1995, EUAB 2002].

Das elektromagnetische Spektrum umfasst die Bereiche der Radiowellen, Mikrowellen, Infrarotstrahlung, des sichtbaren Lichtes, der Ultraviolettstrahlung, Röntgenstrahlung und Gammastrahlung. Die verschiedenen elektromagnetischen Strahlungen unterscheiden sich in ihren Frequenzen  $\nu$  und damit in ihren Wellenlängen  $\lambda$ , die über Gl. 1 in Verbindung stehen ( $c$  Lichtgeschwindigkeit).

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad [\text{Hz}] \quad \text{Gl. 1}$$

Die Energie  $E$  eines Stroms von Photonen mit der Frequenz  $\nu$  ergibt sich nach Gl. 2, wobei die Größe  $h$  den Proportionalitätsfaktor, die Planck-Konstante, darstellt.

$$E = h \cdot \nu \quad [\text{J}] \quad \text{Gl. 2}$$

Die Schwingungsspektroskopie beschäftigt sich mit der Absorption von Lichtquanten der Energie  $E$ , welche eine Zustandsänderung eines Moleküls hervorrufen. Anregungen im Wellenlängenbereich des nahen bis mittleren Infrarot, genutzt in der IR- und Raman-Spektroskopie, erzeugen Änderungen von Schwingungs- und Rotationszuständen. Die

Erfassung der IR-Spektren basiert auf der Absorption von IR-Strahlung. Im Gegensatz dazu wird bei der Raman-Spektroskopie die Streustrahlung detektiert.

Zur Charakterisierung der elektromagnetischen Strahlung wird in der optischen Spektroskopie die Wellenzahl  $\tilde{\nu}$  verwendet. Die Wellenzahl, der reziproke Wert der Wellenlänge  $\lambda$  mit der Einheit  $\text{cm}^{-1}$ , stellt die Proportionalität zur Frequenz  $\nu$  (Gl. 3) und mit Gl. 2 auch die direkte Proportionalität zur Energie  $E$  her (Gl. 4).

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c} \quad [\text{cm}^{-1}] \quad \text{Gl. 3}$$

$$E = h \cdot c \cdot \tilde{\nu} \quad [J] \quad \text{Gl. 4}$$

## 2.2 Molekülschwingungen

Als Normal- oder Grundschnwingungen werden die Anzahl der möglichen Molekülschwingungen bezeichnet, die sich aus den drei Freiheitsgraden und der Atomzahl des Moleküls  $N$  ergeben. So existieren für nichtlineare Moleküle nach Abzug der drei Rotations- und drei Translationsfreiheitsgrade  $3N - 6$  und für lineare Moleküle  $3N - 5$  Normalschwingungen, da aufgrund der Symmetrie die Rotation um die Bindungsachse entfällt. Diese Schwingungen können symmetrisch oder asymmetrisch sein.

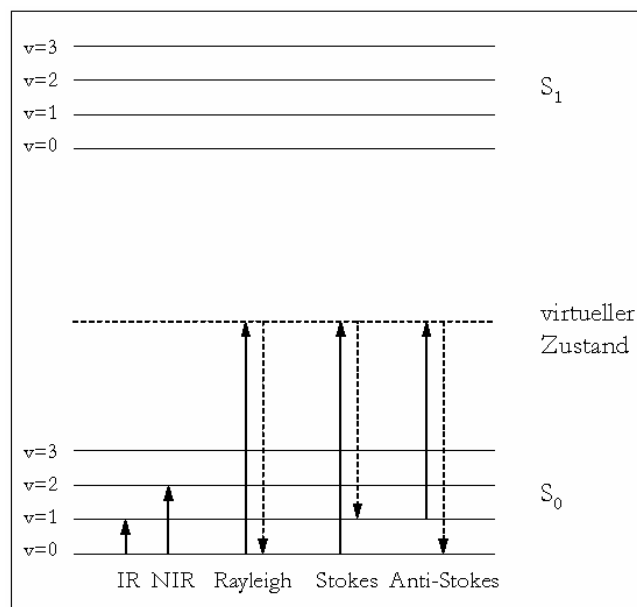


Abb. 1 Energieniveauschema der Übergänge bei IR- und NIR-Absorption sowie die Rayleigh-, Stokes- und Anti-Stokes-Streuung;  $S_0$  Molekülschwingungen des Grundzustandes,  $S_1$  Molekülschwingungen des angeregten Zustands,  $\nu$  Schwingungsquantenzahl [BUGAY und FINDLAY 1999, modifiziert].

Man unterscheidet die Valenzschwingungen  $\nu$ , die Schwingungen entlang der Bindungsachse umfassen, von den Deformationsschwingungen  $\delta$ , welche unter Beeinflussung des zwischen drei Atomen auftretenden Bindungswinkels zu beobachten sind. Bei planaren Molekülen können zusätzlich so genannte out-of-plane-Schwingungen  $\Gamma$  auftreten, bei denen sich Atome aus der Molekülebene heraus bewegen.

Die Änderungen des Schwingungszustandes von Molekülen sind mit Energieänderungen verbunden, jedoch finden, wie in Abb. 1 gezeigt, keine Übergänge in den angeregten Zustand statt.

## 2.3 Theoretische Grundlagen

Mit der Entdeckung der inelastischen Streuung elektromagnetischer Strahlung am Anfang des 20. Jahrhunderts begann die Entwicklung der Raman-Spektroskopie, die jedoch bereits nach kurzer Zeit von der sich als Routinemethode etablierenden IR-Spektroskopie verdrängt wurde. Erst mit der Entwicklung der Lasertechnologie (*LASER light amplification by stimulated emission of radiation*), der Fourier-Transformation (FT)-Raman-Spektroskopie und empfindlicheren Detektoren begann ihr Wiedereinzug in zahlreiche Laboratorien. In einigen Bereichen hat sich die Raman-Spektroskopie als unerlässliche Untersuchungsmethode durchgesetzt [SCHRADER et al. 1989, LEVIN und LEWIS 1990].

### 2.3.1 Der Raman-Effekt

Die Existenz der inelastischen Streuung von Licht wurde bereits 1923 von A. SMEKAL postuliert und schließlich 1928 von den indischen Physikern C. V. RAMAN und K. S. KRISHNAN entdeckt [RAMAN und KRISHNAN 1928]. 1930 erhielt RAMAN den Physiknobelpreis für den experimentellen Nachweis des nach ihm benannten Effektes, der die Grundlage der Raman-Spektroskopie darstellt.

Die quantenmechanische Betrachtung erklärt die Theorie des Raman-Effektes am vollständigsten. Werden Moleküle mit monochromatischem Licht bestrahlt, tritt der größte Teil dieser Strahlung ungehindert durch die Probe hindurch (Transmission). Ein geringerer Teil der Strahlung wird an den Molekülen abgelenkt und in alle Raumrichtungen gestreut. Als Rayleigh-Streuung wird die elektromagnetische Strahlung bezeichnet, die elastisch, also ohne messbaren Energieverlust, gestreut wird. Die Frequenz der Rayleigh-Streuung  $\nu_R$  entspricht demzufolge der Frequenz der Anregungswellenlänge  $\nu_0$ . Ein sehr viel kleinerer Teil hingegen, etwa ein Millionstel der anregenden Strahlung, erfährt eine inelastische Wechselwirkung (inelastischer Stoß) mit den Molekülen. Man spricht von der Raman-Streuung, die in Stokes- und Anti-Stokes-Streuung unterschieden wird. Wie in Abb. 2 dargestellt, stehen die Änderungen der Energie und damit der Wellenlänge des Streulichts gegenüber der Anregungswellenlänge und der Energiezustand der Moleküle nach dem inelastischen Stoß in engem Zusammenhang. Bei der Stokes-Streuung besitzen die Moleküle nach dem

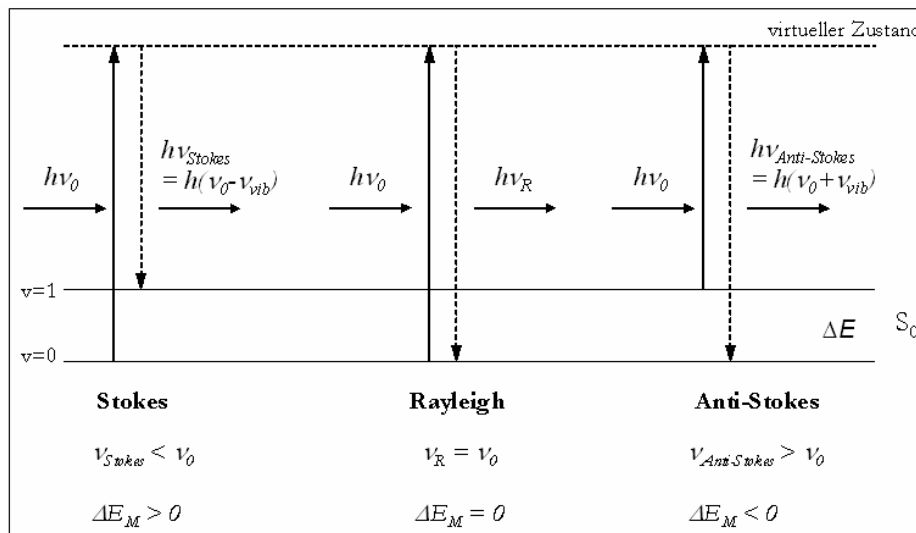


Abb. 2 Energieschema der Rayleigh- und Raman-Streuung;  $\Delta E_M$  Energieänderung eines Moleküls [MCCREERY 2000, modifiziert].

inelastischen Stoß eine höhere Schwingungsenergie ( $\Delta E_M > 0$ ) und das Streulicht ist energieärmer ( $\nu_{Stokes} < \nu_0$ ). Ist hingegen das Streulicht energiereicher ( $\nu_{Anti-Stokes} > \nu_0$ ) als die Anregungswellenlänge, hat das Molekül ein niedrigeres Energieniveau eingenommen ( $\Delta E_M < 0$ ) und man spricht von der Anti-Stokes-Streuung.

Innerhalb eines Raman-Spektrums verschieben sich die Stokes- bzw. Anti-Stokes-Linien gegenüber der Rayleigh-Linie um den gleichen Energiebetrag (Abb. 3). Die Intensitäten der Raman-Streuung im Stokes- und im Anti-Stokes-Bereich unterscheiden sich jedoch deutlich. Da sich bei Raumtemperatur die meisten Moleküle im Schwingungsgrundzustand befinden, ist die Stokes-Streuung intensiver als die Anti-Stokes-Streuung [BUGAY und FINDLAY 1999].

Die Raman-Spektroskopie misst Wellenlängen und Intensitäten von inelastisch gestreutem Licht. Die in einem für jede Substanz charakteristischen Raman-Spektrum angegebenen Wellenzahlen  $\tilde{\nu}$  (Standardbereich 50 bis 3500  $\text{cm}^{-1}$ ) beschreiben die Frequenz- oder Wellenzahl-Verschiebung der Stokes- und Anti-Stokes-Linien relativ gegenüber der Rayleigh-Linie [BUGAY und FINDLAY 1999, SCHITTKOWSKI und BRÜGGEMANN 2002].

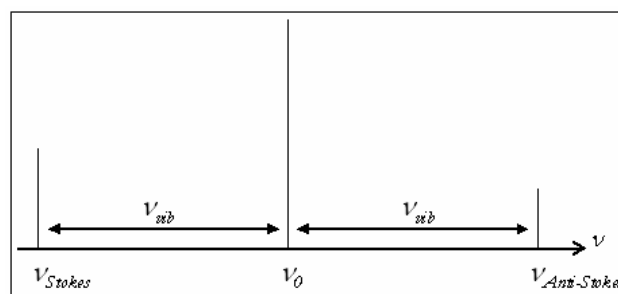


Abb. 3 Frequenzverschiebungen der Stokes- und Anti-Stokes-Linien in Bezug auf die Rayleigh-Linie [SCHRADER 1995, modifiziert].

Die Verschiebungen der Stokes-Linien in Bezug auf die Rayleigh-Linien können sehr gering sein. Außerdem ist die Intensität der Raman-Streuung im Vergleich zur Rayleigh-Streuung sehr klein. Aus diesen Gründen ist es erforderlich, Laserlicht zu verwenden, welches sich durch hohe Monochromasie und Kohärenz über eine lange Zeit auszeichnet und daher eine hohe Intensität besitzt. Um die Detektion der intensiven Anregungswellenlänge zu verhindern, erfolgt die Beobachtung des Streulichtes um einen definierten Winkel, in der Regel um 90° oder 180° versetzt zum Strahlengang des Laserlichtes. Zusätzlich erfolgt die Entfernung der Rayleigh-Streuung durch optische Filter innerhalb des Spektrometers.

### 2.3.2 Polarisierbarkeit eines Moleküls

Die klassische Theorie des Raman-Effektes beschreibt grundlegende Moleküleigenschaften, die für eine Raman-Aktivität Voraussetzung sind. Wird ein Molekül einem elektromagnetischen Feld ausgesetzt, kommt es zu einer räumlichen Trennung der Ladungsschwerpunkte (Protonen – Elektronen). Ein elektrisches Dipolmoment wird erzeugt, das Molekül ist polarisiert.

$$\mu = \alpha \cdot E \quad \text{Gl. 5}$$

Die Abhängigkeit des induzierten Dipolmoments  $\mu$  von der Stärke des angelegten Feldes  $E$  und der molekularen Polarisierbarkeit  $\alpha$  wird in Gl. 5 beschrieben. Es besteht ein vektorieller Zusammenhang, wobei das Dipolmoment  $\mu$  und die Feldstärke  $E$  nicht dieselbe Richtung haben. Die Polarisierbarkeit  $\alpha$  ist mathematisch ein Tensor.

Eine Schwingung ist demzufolge Raman-aktiv, wenn sich die Polarisierbarkeit  $\alpha$  eines Moleküls während der Schwingung ändert (Gl. 6,  $q$  Normalkoordinate der betreffenden Schwingung),

$$\left( \frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)_0 \neq 0. \quad \text{Gl. 6}$$

Da bei der IR-Spektroskopie eine Änderung des Dipolmoments während der Schwingung die Voraussetzung für IR-Aktivität ist, stellt die Raman-Spektroskopie eine ideale Ergänzung zu dieser Methode dar. Mit der Raman-Spektroskopie werden vorrangig symmetrische Schwingungen und unpolare Bindungen dargestellt, während sich die Spektren der IR-Spektroskopie vorwiegend aus polaren Schwingungen und unsymmetrischen Bindungen ergeben. Sie können als komplementäre Methoden betrachtet werden.

Wasser ist nur ein sehr geringer Raman-Streuer, weshalb es als Lösungsmittel in der Raman-Spektroskopie verwendet werden kann.

### 2.3.3 Fourier-Transformation

Die Fourier-Transformation ist ein mathematischer Umformungsalgorithmus, der bereits 1822 von dem französischen Mathematiker und Physiker J. B. J. FOURIER entwickelt wurde. Erst

die Anwendung der Fourier-Transformation in der Raman-Spektroskopie und die Entwicklung von geeigneten Interferometern ermöglichten empfindlichere und leistungsfähigere Spektrometer. Am bekanntesten ist das von A. A. MICHELSON entwickelte Interferometer, welches im Folgenden vorgestellt werden soll.

### 2.3.3.1 Aufbau des Michelson-Interferometers

Der schematische Aufbau eines Michelson-Interferometers ist in Abb. 4 dargestellt. Das Streulicht der Probe trifft auf den Strahlenteiler, einen halbdurchlässigen Spiegel. Ein Teil der elektromagnetischen Strahlung wird reflektiert, der andere Teil tritt ungehindert hindurch. Durch Reflexion an einem festen und einem beweglichen Spiegel gelangt die Strahlung zeitlich versetzt wieder zum Strahlenteiler, wo die beiden elektromagnetischen Wellen interferieren. Der Detektor misst die auftreffende Strahlungsintensität  $I$  in Abhängigkeit der optischen Wegdifferenz  $x$ . Man erhält das Interferogramm  $I(x)$ , welches mithilfe der Fourier-Transformation in das Spektrum  $I(\tilde{\nu})$  umgerechnet wird [KAUPPINEN und PARTANEN 2001].

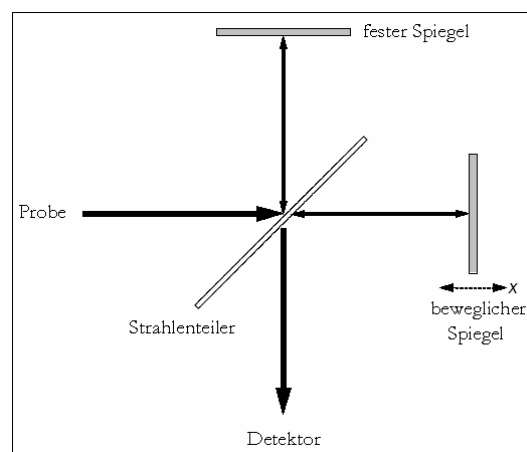


Abb. 4 Schematischer Aufbau eines Michelson-Interferometers [FREUDE 2003b, modifiziert]. Die optische Wegdifferenz  $x$  beschreibt die Spiegelbewegung.

Die Position des beweglichen Spiegels, der sich mit einer Geschwindigkeit von bis zu  $30 \text{ mm s}^{-1}$  bewegt werden kann, wird über einen Helium-Neon-Laser erfasst. Eine komplette Spiegelbewegung (hin und zurück) entspricht einem Scan. Im Falle des FT-Raman-Spektrometers RFS 100/S dauert ein Scan etwa 1,5 s.

### 2.3.3.2 Vorteile der Fourier-Transformation

Die vor der Entwicklung der FT-Raman-Spektroskopie üblichen dispersiven Raman-Spektrometer [FREUDE 2003b] enthielten Monochromatoren. Deren enge Spalte führten zu einem großen Verlust der Strahlungsintensität. Durch den Wegfall der Monochromatortechnik wurde eine höhere Messempfindlichkeit infolge der effektiveren Nutzung der Strahlungsquellenintensität erreicht. Man spricht vom JACQUINOT-Vorteil.

Der FELLGETT-Multiplex-Vorteil liegt darin, zu jedem Zeitpunkt vom Detektor die Lichtintensität des gesamten Frequenzbereiches zu erfassen. Nur ein Scan, also eine komplette Spiegelbewegung, ist notwendig, um ein vollständiges Spektrum aufzunehmen. Dies bedeutet eine massive Messzeitverkürzung gegenüber den dispersiven Messgeräten. Zusätzlich wird eine Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses erreicht.

Eine hohe Wellenzahlstabilität der Spektren resultiert aus der kontinuierlichen Überprüfung der Position des beweglichen Spiegels mithilfe des Helium-Neon-Lasers. Dieser CONNES-Vorteil führt zu einer hohen Reproduzierbarkeit der Spektren.

Die Auflösung  $\Delta\nu$  steht mit dem maximalen Spiegelweg  $x_{\max}$  in indirektem Zusammenhang (Gl. 7).

$$\Delta\nu = \frac{1}{x_{\max}} \quad [\text{cm}^{-1}] \quad \text{Gl. 7}$$

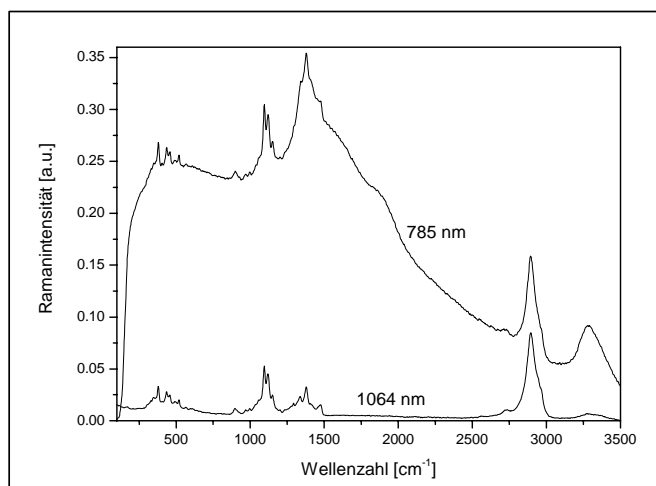
Das Auflösungsvermögen von FT-Spektrometern ist über den gesamten Spektralbereich konstant. Im Vergleich dazu ändert sich die Auflösung in Dispersionsspektrometern mit der Frequenz und ist abhängig vom Winkel, unter dem der Strahl auf das Gitter trifft.

## 2.4 NIR FT-Raman-Spektroskopie

Diese Art der FT-Raman-Spektroskopie arbeitet mit Anregungswellenlängen im NIR-Bereich. Dafür stehen Laser wie der Krypton-Laser (752 und 799 nm), der Titan-Saphir-Laser (670 bis 1.100 nm), der Nd:YAG-Laser (1.064 nm) oder der Nd:YLF-Laser (1.047 und 1.053 nm) zur Verfügung [CHASE 2002, PAN et al. 2002]. Der Krypton- und der Titan-Saphir-Laser erzeugen auch Licht mit Wellenlängen im sichtbaren Bereich. Am häufigsten wird der Nd:YAG-Laser mit einer Anregungswellenlänge von 1.064 nm verwendet.

Die Fluoreszenz, die vor allem bei organischen Substanzen infolge der Anregung im UV- oder sichtbaren Bereich zu beobachten ist und zu einer vollständigen Überdeckung der Raman-Spektren führen kann, wird in den meisten Fällen bei Verwendung einer Anregungswellenlänge von 1.064 nm vermieden. Am Beispiel der mikrokristallinen Cellulose in Abb. 5 wird deutlich gezeigt, wie sich das Raman-Spektrum verbessert, wenn der Wechsel der Anregungswellenlänge von 785 nm auf 1.064 nm erfolgt.

Problematisch sind die mit der Verwendung der NIR-Anregung verbundene Abnahme der Raman-Streustrahlungsintensität sowie die in diesem Wellenlängenbereich einzusetzenden Germaniumdetektoren mit geringerer Empfindlichkeit [SCHRADER 1997a]. Erst die Entwicklung der Fourier-Transformation hat eine breite, effektive Anwendung der NIR Raman-Spektroskopie ermöglicht.



**Abb. 5** Vergleich der Raman-Spektren von Avicel PH101 bei einer Anregungswellenlänge von 785 nm mit Fluoreszenz (FT-Raman-Spektrometer RFS 100/S Bruker, Frequenzstabilisierter Dioden-Laser) und einer Anregungswellenlänge von 1.064 nm ohne Fluoreszenz (FT-Raman-Spektrometer RFS 100/S Bruker, Nd:YAG-Laser).

Im Bereich des NIR kommt es zu Anregungen von Oberton- und Kombinations-schwingungen. Daher sind Eigenabsorptionen von organischen Lösungsmitteln, von Wasser und der Probe möglich [PETTY 1991, EVERALL 1994]. Jedoch kann am Beispiel des Wassers direkt auf dessen Absorptionsspektrum verwiesen werden, welches im Bereich der Anregungswellenlänge des Lasers bei 1.064 nm ein Minimum aufweist [SCHRADER 1995].

Ein großer Vorteil der NIR-Anregungswellenlängen stellt die problemlose Verwendung von Quarz-Lichtleitfasern dar, die im Wellenlängenbereich der Messung fluoreszenzfreier Raman-Spektren maximale Transmission zeigen. Der Transport der Erregerstrahlung und der Raman-Streustrahlung ist deshalb über Entfernungen von mehreren Metern praktisch ohne Verluste möglich [SCHRADER 1997b, LEWIS und ROSENBLUM 2002].

## 2.5 Vor- und Nachteile der Raman-Spektroskopie

### 2.5.1 Vorteile

Im Gegensatz zur IR-Spektroskopie erlaubt die Raman-Spektroskopie die einfache Messung von Proben aller Aggregatzustände (Gase, Flüssigkeiten und Festkörper) zerstörungsfrei, nicht invasiv und ohne aufwendige Probenvorbereitung. Die Proben können direkt vor dem Anregungslaser positioniert oder in Glasgefäßen vermessen werden [SCHRADER 1997b].

Da Wasser nur ein schwacher Raman-Streuer ist, kann es als Lösungs- und Hilfsmittel verwendet werden.

In der Regel beträgt der Durchmesser des Anregungslaserlichts 1 mm, so dass die spektroskopische Untersuchung kleinster Probenmengen möglich ist. Bei Verwendung der Raman-Mikroskopie kann der Durchmesser auch kleiner als 1  $\mu\text{m}$  sein [FROST et al. 1999].



Raman-Spektren enthalten viele Informationen, die durch Auswertung charakteristischer Bandenlagen Rückschlüsse auf charakteristische Gruppen und Molekülbesonderheiten zulassen. Es können daher Bestimmungen von Struktur und Bindung und damit die Identifizierung bekannter und unbekannter Verbindungen, Untersuchungen zu Molekülsymmetrien sowie Konformations-, Modifikations- und Isomerenanalysen durchgeführt werden. Die Raman-Spektroskopie kann zur Identitäts- und Materialprüfung, aber auch durch Verwendung der Faseroptik zur on-line-Prozesskontrolle verwendet werden. Chemometrische Methoden wie die multivariate Analyse, die mittlerweile in der Mess- und Auswertesoftware der Geräte enthalten sind, vereinfachen die Auswertung quantitativer Untersuchungen erheblich [THOMAS und HAALAND 1990].

Raman-Experimente sind einfach durchführbar und bedürfen keines gesondert geschulten Personals. Die Messzeit ist relativ kurz, was eine schnelle Rückmeldung möglich macht und besonders für eine on-line-Überwachung spricht. Die Ergebnisse der Raman-Spektroskopie zeigen eine gute Reproduzierbarkeit.

### 2.5.2 Nachteile

Nachteilig ist ein Aufheizen der Proben durch die intensive Laserstrahlung, falls die Absorptionsbanden der Probe oder des Lösungsmittels im Anregungswellenlängenbereich des Lasers liegen [LEVIN und LEWIS 1990, HENDRA 2000].

Auftretende Fluoreszenz der meist organischen Proben oder enthaltener Verunreinigungen durch Anregungen im UV-Bereich bzw. mit sichtbarem Licht können durch die Verwendung von NIR-Lasern umgangen werden.

## 2.6 Einsatzgebiete der Raman-Spektroskopie

Durch geeignete temperierbare Probenhalterungen können temperaturabhängige Eigenschaften von Proben wie Konformationsänderungen, Phasenumwandlungen und Zersetzungsprozesse untersucht, erfasst und mithilfe der molekularen Informationen der Raman-Spektren aufgeschlüsselt und interpretiert werden [ZBYTOVSKÁ et al. 2004].

Das Einbringen von Polarisationsfiltern in den Strahlengang des Spektrometers erlaubt die Untersuchung der Wechselwirkungen von polarisiertem Licht mit den Molekülen und ermöglicht Aussagen über optische Eigenschaften von Proben [HUG 2002].

Lichtmikroskope können zur Raman-Spektroskopie verwendet werden [FROST et al. 1999, DHAMELINCOURT 2002, JÄHN et al. 2002] oder Raman-Geräte werden in Form von Mikroskopen gebaut [HAMMOND und CLARK 2002], wodurch sich die Möglichkeit bietet, sehr kleine Proben zu untersuchen. Eine zweidimensionale Visualisierung der Probe durch orts aufgelöste und wellenzahlabhängige Betrachtung der Raman-Spektren kann vorgenommen werden, wobei bei dem so genannten Raman-Mapping ein punktförmiges Abrastern der Probe erfolgt. Werden hingegen die Streulichtintensitäten orts aufgelöst aber zeitgleich über geeignete

Detektoren erfasst, handelt es sich um Raman-Imaging [OTTO und GREVE 1998, SCHITTKOWSKI und BRÜGGEMANN 2002, TREADO und NELSON 2002].

Die Einsatzgebiete und Verwendungsmöglichkeiten der Raman-Spektroskopie sind vielfältig. So ist sie zum Beispiel in Bereichen der Industrie, der Chemie, der Mineralogie, der Biochemie, der Lebensmittelchemie, der Archäologie, der Kunstwissenschaften und der Materialforschung anzutreffen [SCHRADER 1997b]. Die Raman-Spektroskopie dient der Charakterisierung von Polymeren [MADDAMS 1994], der zerstörungsfreien Identifizierung von Mineralien [FROST et al. 1999], der Erforschung der Zellzusammensetzung [SCHRADER et al. 1999] sowie der Untersuchung von Kohlenhydraten als Lebensmittel- oder Zellbestandteil und pharmazeutischen Hilfsstoffen. Vorteilhaft sind dabei die zerstörungsfreie Messung, die geringe Probenvorbereitung und die Verwendung der Lichtleitfasern.

So kann die Raman-Spektroskopie in der pharmazeutischen Industrie zur qualitativen und quantitativen Analyse von Zwischen- und Endprodukten sowie prozessüberwachend verwendet werden [VANKEIRSBILCK et al. 2002]. In diesem Zusammenhang seien die Analyse von verschlossenen Arzneiformen wie Flaschen und Ampullen sowie radioaktiven, infektiösen, karzinogenen, sehr giftigen und luftempfindlichen Substanzen und Präparaten erwähnt, die eine potentielle Gefährdung der Angestellten darstellen. Ebenso können Entmischungstendenzen, Rekristallisationen und polymorphe Umwandlungen in festen Arzneiformen wie Tabletten untersucht und während der Produktion überwacht werden. Auch bei Untersuchungen der Arzneistoffqualität innerhalb von Lagerungsexperimenten stellt die Raman-Spektroskopie eine zerstörungsfreie Alternativmethode dar [SCHRADER 1997b]. Da diese Methode die Charakterisierung symmetrischer Schwingungen und unpolarer Gruppen zulässt, ist die Raman-Spektroskopie in der pharmazeutischen Forschung verbreitet. Sie ermöglicht die Untersuchung und Charakterisierung sowohl aliphatischer Kohlenstoffverbindungen wie Hautlipiden [WILLIAMS et al. 1992, WEGENER et al. 1996] oder Penetrationsenhancern [ZBYTOVSKÁ et al. 2004] als auch polymorpher Formen von Arzneistoffen [GRUNENBERG et al. 1995, TAYLOR und ZOGRAFI 1998].

## 2.7 Das Bruker FT-Raman-Spektrometer RFS 100/S

Das FT-Raman-Spektrometer RFS 100/S von Bruker (Abb. 6) besitzt einen diodengepumpten Nd:YAG-Laser (DPY 301 II0.50 EM, Coherent) mit einer Anregungswellenlänge von 1.064 nm bei einer computergesteuerten Laserleistung von maximal 500 mW. Die Messung der Streustrahlung erfolgt im Winkel von 90° bzw. 180° nach Durchtritt durch die Aperturblende und das Interferometer. Der ultrahochempfindliche Germanium-Detektor ist mit flüssigem Stickstoff gekühlt. Die Apodisation der Interferogramme erfolgt mit der Blackman-Harris-4-Term-Funktion. Die Spektren haben eine Auflösung von 4 cm<sup>-1</sup>.

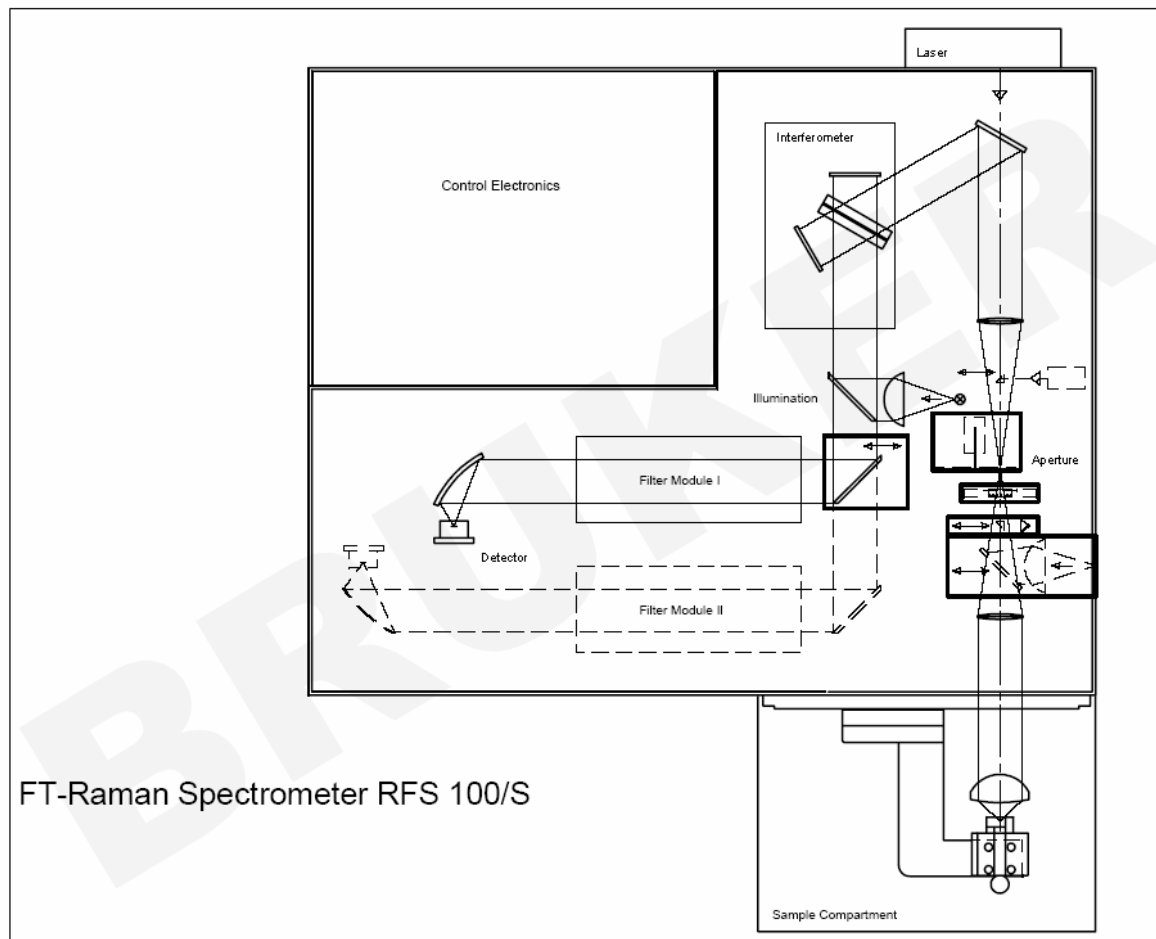


Abb. 6 Strahlengang des FT-Raman-Spektrometers RFS 100/S von Bruker.

## 3 ATMOSPHERISCHE RASTERELEKTRONENMIKROSKOPIE

Dieses Kapitel soll einen Überblick über die Rasterelektronenmikroskopie geben und im Speziellen auf die atmosphärische Rasterelektronenmikroskopie (ESEM) eingehen sowie deren Besonderheiten vorstellen.

### 3.1 Einführung

#### 3.1.1 Grundlagen der Elektronenmikroskopie

Die dualistischen Modelle zur Beschreibung des Verhaltens von Licht sowohl als Welle als auch als Teilchen (Welle-Teilchen-Dualismus) legten den Grundstein für die Entwicklung der Elektronenoptik. Die Charakterisierung der Elektronen als Welle erfolgte erstmals 1924 durch L. V. DE BROGLIE. In Elektronenmikroskopen werden im Vergleich zur Lichtoptik Elektronenstrahlen mit Wellenlängen von 0,001 bis 0,01 nm verwendet [GOODHEW und HUMPHREYS 1991], wodurch Vergrößerungen um den Faktor 100.000 bis 1.000.000 möglich sind.

In der Elektronenmikroskopie unterscheidet man zwischen den Methoden der Durchstrahlungs- bzw. Transmissionselektronenmikroskopie (TEM), wobei die innere Struktur von Proben abgebildet werden kann, und der Rasterelektronenmikroskopie (REM), welche die Oberfläche von Proben erfasst.

#### 3.1.2 Vor- und Nachteile der Elektronenmikroskopie

Die Vorteile [GOODHEW und HUMPHREYS 1991, SCHMIDT und WEYHING 2004] der Elektronenmikroskopie gegenüber der Lichtmikroskopie bestehen in

- höheren Vergrößerungen,
- höherer Auflösung,
- viel größerer Tiefenschärfe (plastischer, quasi dreidimensionaler Bildeindruck),
- größerer Oberflächensensitivität (besonders im Niederspannungsbetrieb) und
- einer größeren Vielseitigkeit durch Zusatzeinrichtungen wie Mikroanalysatoren zur Elementanalyse der Probe durch Erfassung der Röntgenspektren.

Die Nachteile der Elektronenmikroskopie liegen in einer aufwendigeren Probenvorbereitung, welche zur Veränderung bzw. Zerstörung der Probe sowie zur Artefaktbildung auf der Probenoberfläche führen kann, in der Elektronenstrahlempfindlichkeit und damit verbundener Modifikationen der Proben und deutlich höheren Kosten gegenüber der Lichtmikroskopie.

## 3.2 Konventionelle Rasterelektronenmikroskopie

### 3.2.1 Aufbau eines konventionellen Rasterelektronenmikroskops

Die wichtigsten Bauteile eines Rasterelektronenmikroskops [GOODHEW und HUMPHREYS 1991] sind

- die Elektronenkanone,
- die magnetischen Linsen (Kondensorlinsen und Objektivlinse),
- die Ablenkspulen und
- der Detektor.

Die Elektronenkanone dient der Erzeugung des Elektronenstrahls und besteht aus Kathode, Wehneltzylinder und Anode. Die Freisetzung von Elektronen erfolgt einerseits durch thermionische Emission, wobei Kathodenmaterialien wie ein Wolframfaden auf über 2.700 K oder ein LaB<sub>6</sub>-Kristall auf über 1.800 K erhitzt werden, andererseits durch die Erzeugung von Elektronen über Feldemission. Hierbei wird eine Metalloberfläche, häufig ebenfalls Wolfram, einem extrem hohen elektrischen Feld ausgesetzt.

Die Beschleunigung der Elektronen über eine Potentialdifferenz (10 bis 1.000 kV) zur Anode erzeugt einen Elektronenstrahl definierter Energie  $E$  zwischen 2 bis 40 keV. Der Wehneltzylinder reguliert den Durchmesser des elektronenemittierenden Bereichs durch eine stärker negative Spannung als die der Kathode. Entscheidend für die REM-Auflösung ist der Strahldurchmesser im Kreuzungspunkt der Elektronen.

Der Elektronenstrahl wird durch Magnetfelder (magnetische Linsen) gelenkt und fokussiert. Kondensorlinsen bündeln den Strahl und die Objektivlinse fokussiert ihn schließlich auf die Probenoberfläche. Mithilfe der magnetischen Felder der Ablenkspulen wird er zeilenförmig über die Probenoberfläche bewegt.

Detektorsysteme, Szintillator- oder Festkörperdetektoren, erfassen die Zahl der Sekundärelektronen (SE) an jedem Punkt der Probenoberfläche. Parallel zu dem auf der Probe geschriebenen Raster entsteht auf einem Monitor ein linear vergrößertes Raster. Zur Erfassung von SE im konventionellen REM wird der Everhart-Thornley-Detektor, ein Szintillator-Photomultiplier-Detektor, verwendet. Durch verschiedene Spannungen zwischen Probe und Kollektor (bis 300 V) sowie Kollektor und Szintillator (etwa 10 kV) werden die SE in Richtung Detektor gesaugt und zum Szintillator beschleunigt. Durch einen Photomultiplier werden die Photonen, die infolge der Beschleunigung durch Lumineszenz entstehen und auf den Photomultiplier treffen, erfasst. Die nun umgewandelten elektrischen Signale können um

das  $10^6$ -fache verstärkt werden und modulieren auf dem Monitor die Helligkeitswerte entsprechend jedem Punkt der Probenoberfläche.

### 3.2.2 Mögliche Wechselwirkungen der Elektronen

Die starke Streuung der Elektronen an Gasmolekülen ist ein entscheidender Störfaktor in der Elektronenmikroskopie. Durch Arbeiten im Hochvakuum (Drücke  $<10^{-5}$  Pa) wird diesem Problem entgegengewirkt. Aus diesem Grund ist es auch nur möglich, vollkommen trockene Proben zu untersuchen.

Die negative Ladung der Elektronen und die ihnen durch die Beschleunigung übertragene Energie kann ganz oder teilweise an die Probe weitergegeben werden. Dies führt zur Aufladung der Probenoberfläche und damit zu einer Verschlechterung der Aufnahmequalität. Es sind aber auch chemische Reaktionen durch Erwärmung der Probe möglich. Durch Bedampfung der Probenoberfläche mit dünnen Schichten aus Gold, Kohlenstoff oder Platin (wenige Nanometer) ist es möglich, Ladungen (negative Aufladung der Oberfläche) abzuleiten sowie die Probe teilweise vor der Zerstörung durch den Elektronenbeschuss zu schützen.

Die Wechselwirkung der Elektronen mit dem Untersuchungsmaterial wird im Hinblick auf die Detektion und die weitere Untersuchung der Probe ausgenutzt. In der Regel treten die Primärelektronen (PE) in die Probe ein und interagieren mit den Atomen des Probenmaterials. Ein Teil dieser PE wird elastisch gestreut und tritt ohne messbaren Energieverlust als Rückstreuelektronen (RE) wieder aus. Bei Verlust eines Teils der Energie der PE spricht man von inelastischer Streuung. Die kinetische Energie der PE wird hierbei fast vollständig in Wärmeenergie umgewandelt. Ein geringer Teil der Energie kann die Probe als Röntgenstrahlung oder Sekundärelektronen verlassen.

Rückstreu- und Sekundärelektronen werden als bilderzeugende Signale in der Elektronenmikroskopie verwendet. Geeignete Detektorsysteme sammeln diese mit einem Kollektor und erfassen sie über einen Szintillationszähler. Zur Röntgenspektralanalyse eingebaute Mikroanalysatoren untersuchen die hochenergetischen Röntgenstrahlen, die eine Identifizierung der chemischen Zusammensetzung der Probe ermöglichen.

## 3.3 Atmosphärische Rasterelektronenmikroskopie

### 3.3.1 Aufbau, Besonderheiten und Funktionsweise des atmosphärischen Rasterelektronenmikroskops

Die atmosphärischen Rasterelektronenmikroskope (ESEM) stellen eine Weiterentwicklung der konventionellen Rasterelektronenmikroskope dar, welche durch die Entwicklung eines neuen Detektorkonzeptes ermöglicht wurde. Der Aufbau des ESEM ist in Abb. 7 gezeigt. Der Elektronenstrahl wird durch mehrere Kammern geführt, in denen unterschiedliche Partialdrücke herrschen, und trifft auf einen temperierbaren Probenstisch. Die einzelnen

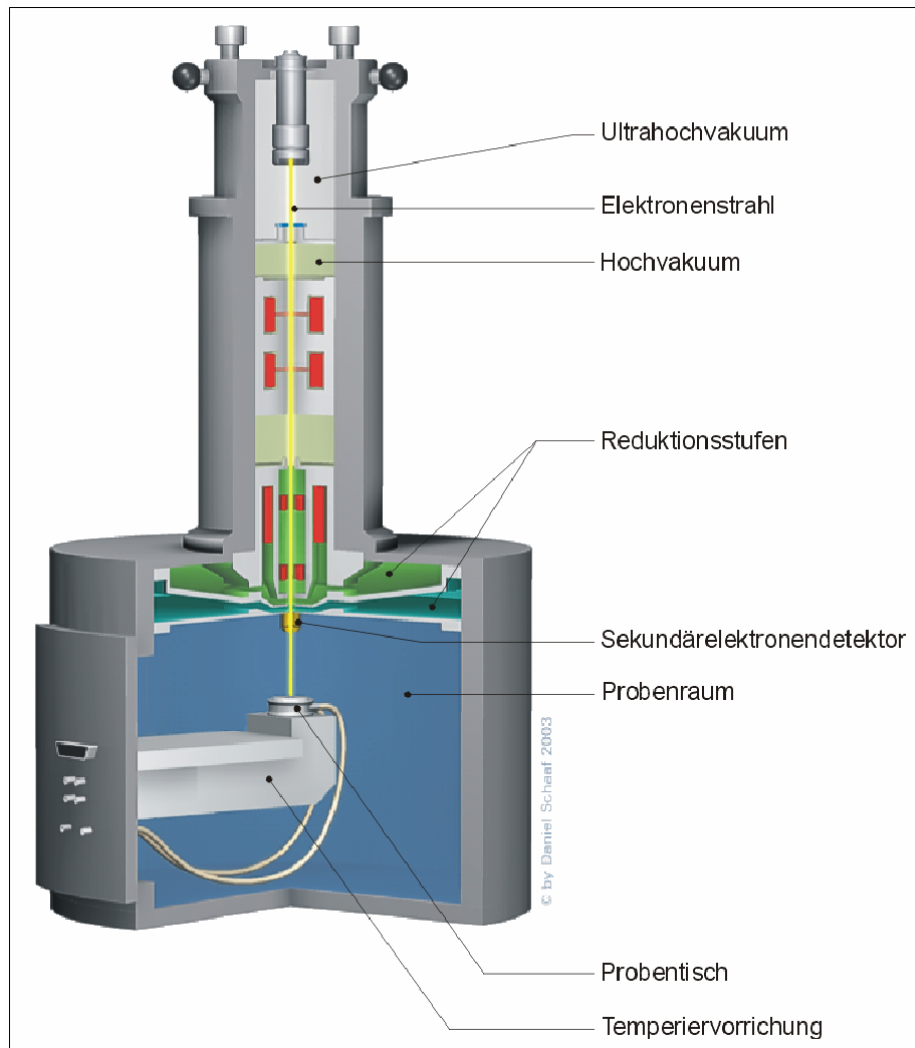


Abb. 7 Prinzipieller Aufbau des ESEM-E3 (ElectroScan), der den Weg des Elektronenstrahls durch die verschiedenen Druckbereiche des Elektronenmikroskops bis zur Probe beschreibt [FHI].

Druckbereiche sind durch entsprechende elektronenstrahldurchlässige Blenden voneinander getrennt und werden durch mehrere Vakuumpumpen separat evakuiert. Die Druckkammern sind so gewählt, dass der Elektronenstrahl nur kurz vor der Probenoberfläche von einem höheren Gasdruck im Probenraum beeinflusst wird. Durch den Elektronenstrahl entstehende elektrostatische Aufladungen der Probe werden durch die ionisierte Gasatmosphäre kompensiert.

Die Detektion der SE bei Betrieb des ESEM im Feinvakuumbereich (Drücke  $>10^{-5}$  Pa) ist möglich, weil der Detektor in der Lage ist, die Gasfüllung der Probenkammer als Verstärkungsmedium zu nutzen [CAMERON 1994] (Abb. 8). Verwendet wird der so genannte *Environmental Secondary Electron Detector* (ESD), welcher sich ringförmig um die Austrittsstelle des Primärelektronenstrahls befindet. Durch die Wechselwirkungen des Elektronenstrahls mit der Probenoberfläche entstehen SE, die in Richtung des Detektors beschleunigt werden (bei Spannungen von etwa 1 kV). Auf ihrem Weg erzeugen die SE durch die Kollision mit Gasmolekülen lawinenartig neue Elektronen (*environmental secondary electrons*, ESE). Daraus resultiert letztlich ein Verstärkungseffekt, der für die Bildsignalverstärkung genutzt wird.

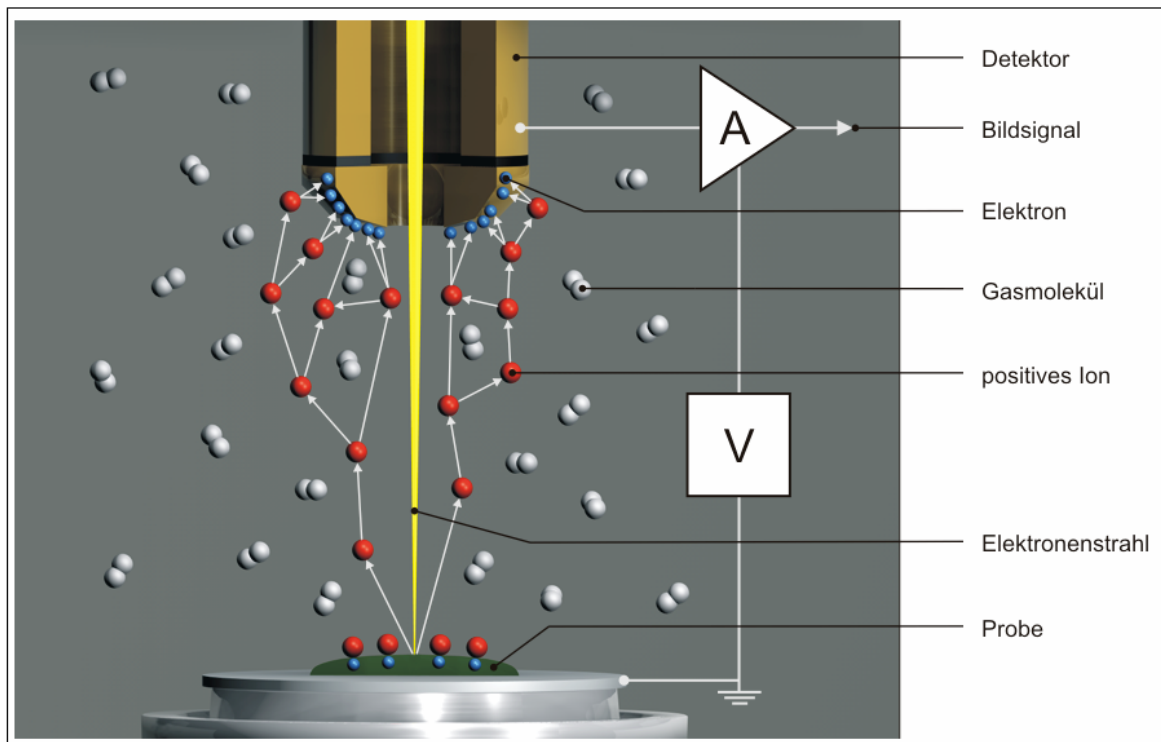


Abb. 8 Schema der ESEM-Signaldetektion [FHI].

Die Intensität des abbildenden Primärelektronenstrahls ist neben der Beschleunigungsspannung und dem Primärstrahlstrom im Wesentlichen vom Gasdruck, der Gasart und dem Abstand zwischen Probenoberfläche und Detektor abhängig. Das Gas in der Probenkammer erfüllt drei wichtige Funktionen [HOPFE et al. 1993]. Es ist die Quelle zum Generieren der positiv geladenen Ionen, die für die Aufladungskompensation notwendig sind, und es dient als Verstärkungsmedium für das Bildsignal von der Probenoberfläche sowie als Medium zur Konservierung bzw. Konditionierung des Probenzustandes.

Für den praktischen Betrieb ist es zweckmäßig, eine definierte Gasatmosphäre in der Probenkammer zu schaffen. Unter den in Frage kommenden Gasen ist insbesondere Wasserdampf von Interesse, der leicht handhabbar ist und sehr gute Verstärkungseigenschaften aufweist. Außerdem enthalten viele Proben Wasser, so dass feuchtes Probenmaterial durch die Wasserdampfatmosphäre vor dem zu schnellen Wasserverlust bzw. vor dem Austrocknen bewahrt werden kann. Prinzipiell sind jedoch auch andere Gase bzw. Gasgemische im ESEM einsetzbar. Dazu zählen neben Luft auch reiner Stickstoff, Argon und Helium.

Unter Berücksichtigung dieser Randbedingungen lässt sich ein für die elektronenmikroskopische Abbildung verwendbarer Gasdruckbereich ermitteln, der für Wasserdampf ungefähr zwischen 0,1 und 3 kPa liegt. In diesem „Abbildungsbereich“ ist das Bildsignal/Rausch-Verhältnis ausreichend, so dass die elektronenoptisch begrenzte, maximale mikroskopische Auflösung von ca. 10 nm (XL30 ESEM-FEG, Philips) bzw. ca. 50 nm (ESEM-E3, ElectroScan) erzielt wird.



Zur Konditionierung der Probe oder für die Untersuchung spezifischer Reaktionen des Probenmaterials mit Gasen oder Flüssigkeiten können auch zum Teil erheblich höhere Gasdrücke realisiert werden. Das Vakuumsystem toleriert zum Beispiel bis zu 5 kPa Wasserdampf, bis zu 7 kPa Luft und bis zu 9 kPa Stickstoff.

### 3.3.2 Vor- und Nachteile der ESEM-Technik

Die ESEM-Technik gestattet Untersuchungen an original belassenen Proben [DONALD 2002, DONALD 2003], die vorher nicht aufwendig präpariert werden müssen, und ergänzt damit die von der konventionellen Rasterelektronenmikroskopie bekannten Vorteile durch die Aufnahme von Oberflächen ohne leitfähige Bedeckung und die Untersuchung in einer definiert einstellbaren Gasatmosphäre.

In der Probenkammer des ESEM können bei Drücken im Fein- und Grobvakuumbereich Temperatur und Feuchte eingestellt und somit definierte Umgebungsbedingungen geschaffen werden. Dadurch ist es möglich, den Originalzustand einer Probe zu konservieren und mittels ESEM-Technik zu untersuchen. Dazu zählen

- elektrisch nicht leitende Probenmaterialien,
- nicht vakuumbeständige Proben,
- Gas freisetzende Materialien,
- feuchtigkeitshaltige Proben [DONALD 2003],
- biologische Proben wie Zellkulturen [TAI und TANG 2001, KOCH 2003, STOKES et al. 2002, STOKES et al. 2003] sowie
- Gele und Flüssigkeiten [STELMASHENKO et al. 2001].

Mit der ESEM-Technik wird der Umfang der Untersuchungsmöglichkeiten der Rasterelektronenmikroskopie wesentlich erweitert [HOPFE und FÜTING 1995]. Die Schaffung definierter Umgebungsbedingungen ermöglicht verschiedenste *in situ*-Experimente. Dazu zählen

- *in situ*-Präparation [JENKINS und DONALD 1997, JENKINS und DONALD 1999],
- *in situ*-Funktionstests,
- *in situ*-Simulationen,
- mechanische Experimente,
- thermische Experimente und
- Experimente mit Flüssigkeiten und Gasen [MILLAR et al. 1997].

Von Nachteil im Hinblick auf die Einwirkungen des Elektronenstroms auf die Probe und die Übertragung der Energie durch inelastische Stöße mit dem Probenmaterial ist die fehlende Beschichtung. Dies kann in vielen Fällen zu einer chemischen und physikalischen Zerstörung der Probe führen, was sich in der Ausbildung unvollständiger Strukturen, von Kettenbrüchen oder Quervernetzungen äußern kann. Die Elektronenstrahlschäden sind abhängig von den Materialeigenschaften, der Zusammensetzung der Probe und deren Empfindlichkeit vor allem gegenüber Erwärmung. Diese Schäden hängen auch von Geräteeigenschaften ab, zu denen die Vergrößerung, der Durchmesser und die Beschleunigungsspannung des Elektronenstrahls, die Rastergeschwindigkeit, die Gesamtzeit, die die Probe dem Elektronenstrahl ausgesetzt ist, und

das verwendete Gas im Probenraum gezählt werden [KITCHING und DONALD 1998, ROYALL et al. 2001].

### 3.4 Verwendung der ESEM-Technik

Zunächst fand die ESEM-Technik vor allem in der Materialforschung Anwendung. Das Verhalten von Zement wurde in Abhängigkeit der Umgebungsbedingungen untersucht [DENG et al. 2002]. Ebenso diskutierten MILLAR et al. [MILLAR et al. 1998] mithilfe der ESEM-Technik die Auswirkungen der Lagerung von Silberkatalysatoren unter Wasserdampf, Methanol und Sauerstoff auf ihre morphologischen Eigenschaften.

Auf dem Gebiet der biologischen Materialien, zu denen einerseits Cellulosefasern zählen, findet die ESEM-Technik Anwendung zur Charakterisierung des Quellungsverhaltens [JENKINS und DONALD 1997], des Einflusses von Alkalien auf die Morphologie [JÄHN 2002] bzw. die Änderung der Morphologie infolge Extrusion [KIESOW et al. 2003]. Sowohl STOKES et al. [STOKES et al. 2003] als auch TAI und TANG [TAI und TANG 2001] charakterisierten andererseits intakte Zellen mit dieser elektronenmikroskopischen Technik, ohne die Lebensfähigkeit der Zellen zu unterbinden.

Morphologische Untersuchungen pharmazeutischer Hilfsstoffe mittels ESEM werden bisher nur selten vorgenommen. WILHELM et al. [WILHELM et al. 2002] untersuchten Stärkepartikel nach Sprühtrocknung und verwendeten die elektronenmikroskopischen Bilder zur Größenanalyse. Die höhere Auflösung der ESEM-Technik im Vergleich zur Lichtmikroskopie wird zur Darstellung des lyotropen Verhaltens von Suspensionen mikrokristalliner Cellulose und der sich ausbildenden anisotropen Phasen genutzt [MILLER und DONALD 2003]. Weiterhin findet die Methode Anwendung zur Charakterisierung der Mizellbildung von Blockcopolymeren, die als polymere Nanocarrier Anwendung in der Gentherapie finden könnten [TIAN et al. 2005] sowie zur Stabilitätsuntersuchung von Liposomen [MOHAMMED et al. 2004].

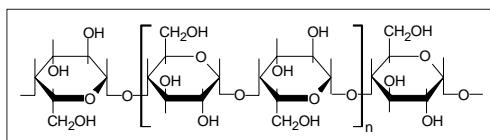
## 4 PHARMAZEUTISCHE HILFSSTOFFE

Im folgenden Kapitel wird auf die verwendeten pharmazeutischen Hilfsstoffklassen, Cellulosen, Celluloseether und Stärken, eingegangen. Es werden deren Eigenschaften und Besonderheiten erläutert sowie verschiedene Verwendungszwecke beschrieben.

Alle untersuchten pharmazeutischen Hilfsstoffe sind polymere Makromoleküle, die das Monosaccharid D-Glucose als Grundbaustein enthalten. In Abhängigkeit der Verknüpfung der Glucoseeinheiten durch eine  $\alpha$ - bzw. eine  $\beta$ -glycosidische Bindung ergeben sich unterschiedliche Strukturen mit charakteristischen Eigenschaften.

### 4.1 Cellulosen

Cellulose (Abb. 9) ist ein lineares Polysaccharid, welches als Zellwandbestandteil in Baumwolle oder Flachs zu über 90% vorkommt und in Holz zu etwa 40 bis 50% enthalten ist. Chemisch



**Abb. 9** Struktur der Cellulose mit der kleinsten Einheit Cellobiose;  $n = 6.000$  bis  $15.000$ .

ist die Cellulose eine Poly- $[\beta$ -1,4-D-glucopyranose]. Die Cellulose erreicht im natürlichen Zustand relative molare Massen bis 2.400.000. Infolge der  $\beta$ -1,4-Verknüpfung der Glucosemoleküle um  $180^\circ$  versetzt zueinander, ergibt sich als kleinste Einheit das Disaccharid Cellobiose.

Die freien Hydroxylgruppen an den Kohlenstoffatomen 2, 3 und 6 bilden intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen zu ihren Nachbarmolekülen aus. Durch diese Stabilisierung lagern sich mehrere der lang gestreckten, fadenförmigen Cellulosemoleküle fest aneinander und bilden eine Elementarfibrille. Mehrere dieser Elementarfibrillen, die sowohl aus amorphen als auch kristallinen Bereichen bestehen, bilden wiederum eine Mikrofibrille. Infolge dieser engen Wechselwirkung der einzelnen Cellulosemoleküle sind Cellulosen mechanisch stabil, wasserunlöslich und gegenüber chemischer und enzymatischer Hydrolyse sehr widerstandsfähig.

Die Cellulose kommt in verschiedenen polymorphen Modifikationen vor. So werden die hochkristallinen Cellulosen I und II sowie amorphe Cellulose beschrieben [ATALLA et al. 1980]. Behandlung mit Natronlauge bewirkt eine Umwandlung der Cellulose I in Cellulose II. JÄHN et al. [JÄHN et al. 2002] beobachteten die morphologischen Veränderungen von Flachsfasern, die infolge der auf die Mikrostrukturen einwirkenden Natronlauge auftreten.

Zellstoff ist der Rohstoff, der aus Holz nach Zerkleinerung und Entfernung von Lignin und Hemicellulosen gewonnen wird und als Ausgangsstoff für die Gewinnung der pharmazeutischen Hilfsstoffe dient. Die Arzneibücher unterscheiden zwischen mikrokristalliner Cellulose (MCC) und Pulvercellulose (PC, auch Cellulosepulver genannt). Weiterhin werden durch chemische Bearbeitung die entsprechenden Celluloseether und Celluloseester, auf die im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter eingegangen werden soll, erhalten [EUAB 2004].

## 4.1.1 Mikrokristalline Cellulose und Pulvercellulose

### 4.1.1.1 Gewinnung und Eigenschaften

Der Zellstoff als Ausgangsmaterial zur Produktion von PC und MCC wird auf zwei Wegen verarbeitet. Für die Gewinnung der PC, die in verschiedenen Partikelgrößen im Handel erhältlich ist, erfolgt eine mechanische Zerkleinerung der natürlichen Cellulosefasern im Zellstoff.

Im Gegensatz dazu ist die Erzeugung von MCC aufwendiger. Zunächst erfolgt die Fällung der  $\alpha$ -Cellulose, die Polymerisationsgrade von über 2.000 aufweist, mithilfe von Natronlauge. Nach einer anschließenden Reinigung und mechanischen Zerkleinerung wird die  $\alpha$ -Cellulose einer partiellen, sauren Hydrolyse unterworfen, wodurch Depolymerisation eintritt. Der Polymerisationsgrad der Cellulosefasern sinkt und der kristalline Anteil steigt, da vor allem amorphe Bereiche entfernt werden. Anschließende Sprühtrocknung liefert die pulverförmigen, gut fließenden Produkte der MCC unterschiedlicher Partikelgröße.

MCC und PC sind wasserunlöslich, aber infolge der verschiedenen Herstellungswege unterscheiden sie sich in ihrem Kristallinitätsindex (KI), das heißt dem Verhältnis der kristallinen Bereiche zur Summe der kristallinen und amorphen Bereiche. Der KI der MCC ist etwa doppelt so groß wie der KI der PC. Weiterhin treten verschiedene durchschnittliche Polymerisationsgrade (DP) und relative molare Massen ( $M_r$ ) auf (siehe Tab. 1). Die Reinheit der Substanzen variiert, wobei die der MCC höher ist.

Tab. 1 Gegenüberstellung der Eigenschaften von MCC und PC.

EIGENSCHAFT	$\alpha$ -CELLULOSE	MCC	PC
$M_r$	300.000 – 500.000	etwa 36.000	etwa 240.000
DP	etwa 2.000	120 – 300	600 – 1.250
KI	-	0,7	0,3

### 4.1.1.2 Wechselwirkungen der Cellulosen mit Wasser

Die starre und feste Struktur der Cellulose entsteht durch die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den einzelnen Cellulosemolekülen. Wasser als starker Dipol konkurriert mit den Ether- und Hydroxylgruppen der Cellulose um mögliche Bindungsstellen und verursacht einen Weichmachereffekt, welcher sich durch An- und Einlagerung von Wasser zwischen die

Celluloseketten ergibt. Die Anlagerung von Wasser erfolgt bevorzugt in den amorphen, aber auch in den kristallinen Bereichen der Cellulosefasern. Man unterscheidet zwischen fest gebundenem (*solid-like*), locker gebundenem (*bound*) und freiem Wasser (*free*) [ZOGRAFI und KONTNY 1986]. Das bedeutet, dass einerseits Wasserstoffbrückenbindungen direkt zwischen Wasser und den Glucosemolekülen oder indirekt zwischen den Wassermolekülen selbst ausgebildet sein können. Locker gebundenes und freies Wasser können unter anderem durch Erwärmen oder durch Anlegen von Druck entfernt werden. Da speziell die MCC in der Lage ist, große Mengen freies Wasser zu binden, bezeichneten FIELDEN et al. [FIELDEN et al. 1988] diese als „molekularen Schwamm“.

Mithilfe des „Kristallit-Gel-Modells“ ist erklärbar, wie große Mengen freien Wassers unter dem Einfluss starker Scherkräfte zum Beispiel beim Extrudieren oder Sphäronisieren im Rahmen der Pelletherstellung innerhalb der MCC-Wasser-Mischungen gehalten werden, ohne auszutreten oder abgepresst zu werden. Infolge der Scherung zerbrechen die MCC-Partikel in kleinere Einheiten und binden das Wasser an ihren amorphen Enden unter Ausbildung so genannter Kristallit-Gele [KLEINEBUDE 1997]. Schnell laufende Rotor-Stator-Rührwerke, die ebenfalls sehr starke Scherkräfte entwickeln, führen gleichermaßen zu einer Zerstörung der langkettigen Struktur der MCC-Partikel [SUZUKI et al. 2001]. Im Gegensatz dazu kann eine Abnahme der Partikelgröße bei PC nicht beobachtet werden [JUMAA et al. 2000].

#### 4.1.1.3 Pulver- und mechanische Eigenschaften – Einflüsse und Auswirkungen

Der Wassergehalt hat Einfluss auf mechanische Eigenschaften der MCC wie Sprödrüchigkeit, plastische Verformbarkeit und Kompressibilität sowie auf deren Fließeigenschaften [AMIDON und HOUGHTON 1995].

Eine Zunahme des MCC-Polymerisationsgrades resultiert in einer Abnahme der Schüttdichte sowie der Pulverfließfähigkeit und in einer Vergrößerung der spezifischen Oberfläche und einer Zunahme des Kristallinitätsindex. Tabletten, die aus diesen MCCs hergestellt werden, haben eine höhere Bruchfestigkeit und einen verminderten Abrieb [SHLIEOUT et al. 2002].

Mit einer Abnahme des Kristallinitätsgrades der MCC ist eine Zunahme der Wasserdampfabsorption verbunden [SUZUKI und NAKAGAMI 1999]. EK et al. [EK et al. 1995] beobachteten eine Abnahme der MCC-Kristallinität unter dem Einfluss einer steigenden Kompaktierkraft.

#### 4.1.1.4 Verwendung in der pharmazeutischen Technologie

Cellulosen werden hauptsächlich in festen oralen Arzneiformen verwendet. Sie sind Füllstoff in Tabletten und Kapseln, Binde-, Schmier- und Sprengmittel in Tabletten und somit in den verschiedenen Bereichen der Tablettierung wie Feuchtgranulierung, Brikettierung oder Direkttablettierung anzutreffen. Ebenso werden Cellulosen als sedimentationsverzögernde Hilfsstoffe in Suppositorien und Suspensionen eingesetzt.

MCC ist der bevorzugte Hilfsstoff zur Herstellung von Pellets, da er sowohl die Fließeigenschaften der Pulvermischung beeinflusst als auch aufgrund seiner plastischen Deformierbarkeit die Ausformung der Pellets während des Extrudierens bzw. Sphäronisierens

begünstigt. Unter Bindemittel-Zusatz kann PC ebenfalls zur Pelletherstellung verwendet werden, wobei die entstehenden Pellets eine schnellere Arzneistofffreisetzung zeigen [LINDNER und KLEINEBUDDE 1994]. Auch BATAILLE et al. [BATAILLE et al. 1997] produzierten Pellets aus PC, wobei die Ausbeute nur halb so groß wie bei Verwendung von MCC war, was mit den besseren plastischen Eigenschaften und der höheren Kapillar- und Absorptionskräfte der MCC begründet wurde.

## 4.1.2 Hydrophile Celluloseether

### 4.1.2.1 Gewinnung, Eigenschaften und Gelbildung

Die freien Hydroxylgruppen am Kohlenstoff 2, 3 und 6 können durch chemische Reaktion mit Methylchlorid oder Propylenoxid zu den entsprechenden nichtionischen wasserlöslichen Celluloseethern Methylcellulose (MC) und Hydroxypropylcellulose (HPC) oder den Mischethern mit beiden Substituenten umgesetzt werden. Im Falle der Hydroxypropylmethylcellulosen (HPMC) sind im Handel verschiedene Substitutionsgrade erhältlich, die sich in ihren Anteilen an Methyl- und Hydroxypropylgruppen unterscheiden. Die Typisierung nach Arzneibuch der USA (USP) und Japanischem Arzneibuch (JP), Typen 1828, 2208, 2906 und 2910, wird im Europäischen Arzneibuch nicht vorgenommen. Aufgrund vielfältiger Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten ist im Handel eine Vielzahl verschiedener Celluloseether erhältlich.

Cellulose ist infolge der kristallinen Struktur wasserunlöslich. Werden die Hydroxylgruppen jedoch durch Substituenten wie Methyl- oder Hydroxypropylgruppen ersetzt, wird die molekulare Struktur aufgelockert. Wasser kann in intermolekulare Zwischenräume eindringen und die Polymere werden wasserlöslich. In Konzentrationen zwischen 2 und 10% (m/m) beginnen die Celluloseether, Gele zu bilden, die sich durch ein dreidimensionales Netzwerk auszeichnen [OFNER und KLECH-GELOTTE 2002].

**Tab. 2** Gegenüberstellung der verwendeten Celluloseether: Methylcellulosen (MC), Hydroxypropylcellulosen (HPC) und Hydroxypropylmethylcellulosen (HPMC) (\* da die Substitution bei den HPCs auch am Substituenten selbst eintreten kann, erfolgt die Angabe als molarer Substitutionsgrad).

	MC	HPC	HPMC
$DS_{\text{Methyl}}$	1,4 – 1,9	-	1,4 – 1,9
$DS_{\text{Hydroxypropyl}}$	-	(4)*	0,13 – 0,23
$M_r$	20.000 – 150.000	50.000 – 1.250.000	10.000 – 220.000
DP	200 – 1.000	200 – 3.000	53 – 1.160

In Tab. 2 werden die Unterschiede in der Molekularstruktur der verwendeten Celluloseether gegenübergestellt. Alle Celluloseether sind in kaltem Wasser löslich, wobei für MC die beste Löslichkeit mit DS 1,1 bis 2,4 zu beobachten ist [DAB 1994].

Zur Herstellung von Gelen aus Celluloseethern können diese in heißem Wasser suspendiert und anschließend im Eisbad gekühlt werden, wobei die Moleküle kolloidal gelöst werden und eine Gelstruktur ausbilden. Mit steigender relativer molarer Masse und Konzentration nimmt die Viskosität der sich ausbildenden Gele zu.

Die Eigenschaften der HPMCs hinsichtlich Kompaktierung und nachfolgender Arzneistofffreisetzung hängen hauptsächlich vom Gehalt der Methylgruppen und vom Substitutionsgrad ab [GUSTAFSSON et al. 1999]. Vor allem ein hoher Anteil hydrophober Methylgruppen reduziert die Festigkeit von Tabletten, da die Ausbildung von Wasserstoffbrücken innerhalb und zwischen den Molekülen abnimmt. Weiterhin wird der hydrophile Einfluss der Hydroxypropylgruppen unterdrückt, wodurch die Hydratisierung, die Quellung von Tabletten und letztendlich die Freisetzungsrates von Arzneistoffen herabgesetzt wird. KODA et al. [KODA et al. 1991] beobachteten analog dazu eine Abnahme der Hydratisierung von MC bei steigendem Substitutionsgrad. Die Arzneistofffreisetzung aus HPMC-haltigen Matrices ist weiterhin abhängig von der molaren Masse der Polymere und der Polymerkonzentration, welche vor allem viskositätsbestimmende Parameter sind, sowie von der Polymerpartikelgröße. Aber auch der Arzneistoff und andere Bestandteile der Arzneiform haben entscheidende Einflüsse [DOW 1995].

#### 4.1.2.2 *Verwendung in der pharmazeutischen Technologie*

Die verwendeten nichtionischen wasserlöslichen Celluloseether, Methyl-, Hydroxypropyl- und Hydroxypropylmethylcellulosen, werden aufgrund ihrer hydrophilen und gelbildenden Eigenschaften bevorzugt in oralen Arzneiformen mit kontrollierter Wirkstofffreisetzung verwendet [ALDERMAN 1984]. An den Berührungsstellen der Arzneiform mit dem Wasser der Körperflüssigkeiten beginnt der entsprechende Celluloseether zu quellen und bildet eine Diffusionsbarriere für den enthaltenen Arzneistoff [GAO und MEURY 1996].

Ebenso können sie für die Feuchtgranulierung, als Bindemittel in Tabletten und als viskositätserhöhende Zusätze in Augentropfen oder Suspensionen verwendet werden. Da die HPMCs in Alkoholen schlecht löslich sind, werden bei alkoholhaltigen galenischen Zubereitungen die HPCs bevorzugt. Im Gegensatz dazu zeigen die HPMC-Gele eine größere Stabilität bei pH-Wert-Schwankungen.

Sie bilden wasserlösliche Überzüge über Pellets und Tabletten, die vor allem unangenehmen Geschmack überdecken sollen sowie durch Zusatz von Pigmenten einen Lichtschutz darstellen [KOKUBO et al. 1998].

### 4.1.3 **Raman-spektroskopische Untersuchungen an Cellulosen und deren Derivaten**

Die Anfänge der Raman-spektroskopischen Untersuchungen der Kohlenhydrate insbesondere der Cellulose liegen in den 1970er Jahren. Die Arbeiten von BLACKWELL et al. [BLACKWELL et al. 1970] und VASKO et al. [VASKO et al. 1971, VASKO et al. 1972] lieferten die ersten Bandenzuordnungen für Raman-Spektren von Cellulose. Seit dieser Zeit wird die Cellulose als Zellwandbestandteil unterschiedlicher Spezies [WILEY und ATALLA 1987, EDWARDS et al.

1994, 1997, HIMMELSBACH und AKIN 1998] und deren polymorphe Struktur [ATALLA 1983, SCHENZEL und FISCHER 2001, JÄHN et al. 2002] mithilfe der Raman-Spektroskopie untersucht.

Um die Bedeutung der Raman-Spektroskopie stärker herauszuarbeiten und deren Verwendungsmöglichkeiten auszuweiten, wurden Spektrenübersichten erstellt [SCHRADER 1989]. GORAL und ZICHY [GORAL und ZICHY 1990] trugen die Charakteristika der Raman-Spektren verschiedener biologischer Materialien und Biopolymere zusammen und stellten sie gegenüber. Bereits 1985 wurde das Verhalten von Celluloseacetat-Filmen mittels Raman-Spektroskopie untersucht [SCHERER et al. 1985]. LANGKILDE und SVANTESSON [LANGKILDE und SVANTESSON 1995] untersuchten die Auswirkung der Substituenten in Celluloseethern auf die Bandenlage der Raman-Spektren und ALVAREZ-LORENZO et al. [ALVAREZ-LORENZO et al. 1999] verwiesen auf die Bedeutung der Raman-Spektroskopie zur Bestimmung des Substitutionsgrades. SEKKAL et al. [SEKKAL et al. 1995] beobachteten die glycosidischen Bindungen von Oligosacchariden und ordneten den Cellulosen spezifische Banden für die  $\beta$ -Verknüpfung zu. Weiterhin wurde die Beeinflussung der Raman-Spektren durch mechanische Beanspruchung von Cellulosefasern untersucht [EICHHORN et al. 2000].

## 4.2 Stärken

Stärken treten in allen Organen der meisten höheren Pflanzen so zum Beispiel in Pollen, Blättern, Blüten, Baumstämmen und anderen verholzten Geweben, Wurzeln, Knollen, Zwiebeln, Rhizomen, Früchten und Samen auf. Zusätzlich kommen Stärken auch in Moosen und Farnen sowie einigen Protozoen, Algen und Bakterien vor [SHANNEN und GARWOOD 1984].

Stärken sind komplex aufgebaute, osmotisch inaktive Kohlenhydrate. Es wird zwischen der Assimilations- bzw. Primärstärke und der Reservestärke unterschieden. Assimilationsstärke entsteht in den Chloroplasten zur kurzzeitigen Lagerung der osmotisch aktiven Glucose als eigentliches Endprodukt der Photosynthese. Nach Abbau zur Saccharose und dem Transport zu den Speicherorganen entsteht in den Amyloplasten die Reservestärke als Depot zur Energiegewinnung [SHANNEN und GARWOOD 1984]. Die Lagerung erfolgt in Form von dicht gepackten und hochgeordneten, wasserunlöslichen Stärkekörnern, in denen die Moleküle nur zu einem geringen Grad hydratisiert vorliegen [FRENCH 1984].

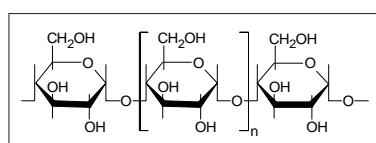
Der Grundbaustein der Stärke ist die D-Glucose, die über  $\alpha$ -1,4- und  $\alpha$ -1,6-glycosidische Bindungen verknüpft vorliegt. Sie ist aus den Polysaccharidfraktionen der langkettigen Amylose und dem verzweigten Amylopektin aufgebaut. In Abhängigkeit der Herkunft der Stärken (Spezies) und den Kultivierungsbedingungen kann der Gehalt der Amylose zwischen 8 und 37% schwanken [SHANNEN und GARWOOD 1984]. In der Regel beträgt das Verhältnis von Amylose zu Amylopektin 1:3 [WHISTLER und DANIEL 1984]. Durch genetische Veränderung wurden Stärken erzeugt, deren Stärkekörner ausschließlich Amylopektin beinhalten, die so genannten Wachsstärken oder Wachsvarietäten. Von Hochamylosestärken spricht man, wenn über 50% Amylose enthalten ist. Die Stärkekörner enthalten daneben auch



geringe Anteile an Lipiden, Proteinen und esterartig gebundener Phosphorsäure [FRENCH 1984]. Der Wassergehalt kann nach Spezies und Lagerungsbedingungen bis zu 20% betragen.

### 4.2.1 Amylose

Die Amylose (Abb. 10) besteht aus  $\alpha$ -1,4-glycosidisch verknüpften Anhydroglucoseeinheiten und stellt die unverzweigte Fraktion der Stärke dar. Die relativen molaren Massen liegen im Bereich von  $10^5$  bis  $10^6$  [REIN 1993] mit bis zu 10.000 Glucosebausteinen [FRENCH 1984]. Intensive Strukturuntersuchungen haben jedoch gezeigt, dass die Amylose nicht absolut linear vorliegt. Mit einem Anteil von bis zu 2,2% können die Glucosemoleküle auch in  $\alpha$ -1,6-glycosidischer Verknüpfung vorkommen [CURA et al. 1995].



**Abb. 10** Struktur der Amylose;  
 $n = 1.000$  bis  $10.000$ .

Der Anteil der Amylose, der unter  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  löslich ist, wird als Diffusionsamylose bezeichnet.

Röntgendiffraktometrische Untersuchungen konnten drei verschiedene polymorphe Formen der Amylose nachweisen, die sich hinsichtlich der kristallinen Packungsdichte der Helices und des Wassergehaltes unterscheiden [SARKO und WU 1978]. Die A-Amylose ist

vor allem in Getreidestärken anzutreffen und die B-Amylose in Wurzelstärken. Die C-Amylose, natürlich vorkommend in Erbsen- und Bohnenstärken, stellt eine Mischform aus A- und B-Amylose dar. SARKO und WU [SARKO und WU 1978] beschrieben die räumliche Struktur der A-Amylose als eine rechtsgängige, antiparallele Doppelhelixstruktur während neuere Untersuchungen von einer linksgängigen, parallelen Doppelhelix ausgehen [IMBERTY et al. 1988, IMBERTY et al. 1991]. A- und B-Amylose können ineinander umgewandelt werden. Weiterhin ist eine V- oder Verkleisterungsamylose beschrieben, welche in Gegenwart geeigneter Gastmoleküle wie Alkoholen [BEAR 1942], Jodiden [RUNDLE und FRENCH 1943] sowie Laurinsäure, Dimethylsulfoxid und Thymol [KAWADA und MARCHESSAULT 2004] unter Bildung von Einschlussverbindungen entsteht. Es handelt sich hierbei um eine linksgängige Einfachhelix. Beobachtete Strukturveränderungen in DSC-Spektren während der Verkleisterung führten zur Namensgebung der Verkleisterungsamylose, deren Auftreten ist allerdings nicht nachgewiesen. Eine Umwandlung der V-Amylose in die B-Amylose erfolgt nach Zugabe von Wasser [ZOBEL 1988a].

**Tab. 3** Vergleich der Eigenschaften der Stärkefraktionen [ZOBEL 1988b, modifiziert].

EIGENSCHAFT	AMYLOSE	AMYLOPEKTIN
$M_r$	$10^5 - 10^6$	$10^6 - 10^7$
DP	1.500 – 6.000	$3 \times 10^5 - 3 \times 10^6$
molekulare Struktur	linear	verzweigt
Komplexbildung	sehr gut	schlecht
Farbe der Jod-Stärke-Komplexe	intensiv blau	rot – violett
Verdaulichkeit durch $\beta$ -Amylase	100%	60%

Die komplexierenden Eigenschaften der Amylose werden einerseits als Nachweisreaktion unter Entstehung intensiv blau gefärbter Jod-Amylose-Komplexe verwendet [BATES et al. 1943] und andererseits zur Fraktionierung der Amylose mit Butanol [SCHOCH 1942], Fettsäuren [MIKUS et al. 1946, SCHOCH und WILLIAMS 1944] oder Nitroparaffinen [WHISTLER und HILBERT 1945] genutzt.

#### 4.2.2 Amylopektin

Amylopektin (Abb. 11) ist eines der größten existierenden Makromoleküle mit einer relativen molaren Masse von  $10^7$  bis  $10^8$  [YOUNG 1984, MANNERS 1989]. Die Mehrheit der Glucosemoleküle sind  $\alpha$ -1,4-glycosidisch gebunden und die linearen, unverzweigten Ketten bestehen aus durchschnittlich 20 bis 25 Glucoseeinheiten. Amylopektin enthält etwa 4 bis 5%  $\alpha$ -1,6-glycosidische Bindungen, welche die Ketten miteinander verknüpfen und somit ein dreidimensionales Netzwerk ausbilden. Der durchschnittliche Polymerisationsgrad beträgt etwa  $10^5$  [MANNERS 1989].

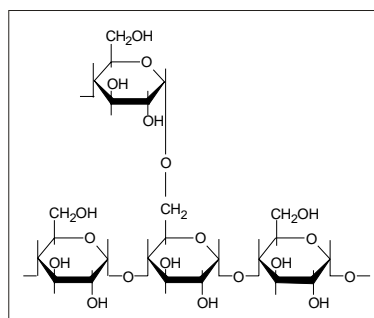


Abb. 11 Verzweigte Struktur des Amylopektins durch  $\alpha$ -1,4- und  $\alpha$ -1,6-glycosidische Bindungen.

Die Struktur des Amylopektins wurde von ROBIN et al. [ROBIN et al. 1974] als „Clustermodell“ beschrieben. Innerhalb dieser Büschelstruktur [REIN 1993] bilden zwei unverzweigte Ketten eine Doppelhelix entsprechend der Struktur der A- oder B-Amylose. Das Verhältnis zwischen A- und B-Modifikation liegt im Bereich von 1,0 bis 1,5:1 [MANNERS 1989]. Es bilden sich innerhalb des Moleküls geordnete und weniger geordnete Bereiche aus, wie dies in Abb. 12 zu erkennen ist.

Amylopektin besitzt im Vergleich zu Amylose kaum komplexierende Eigenschaften, weshalb der Jod-Stärke-Nachweis nur eine rötliche Farbe aufweist.

#### 4.2.3 Aufbau der Stärkekörner und besondere Eigenschaften

Die Größe und Form der Stärkekörner ist charakteristisch für jede Stärkeart. Da man aus ihrer Gestalt auf die Herkunft schließen kann, eignen sie sich zur Identifikation von Samen und anderen stärkehaltigen Pflanzenteilen. Gemeinsam ist allen Stärken ein lamellarer Aufbau, der bei ausreichendem Wassergehalt zu erkennen ist. Die exzentrischen (Kartoffelstärke) oder konzentrischen (Mais- und Weizenstärke) Wachstumsringe haben eine Dicke von 120 bis 400 nm. Sie sind erkennbar als alternierende Bereiche hoher bzw. niedriger Brechungsindices

und gehen vom Bildungszentrum, dem Hilum, aus, welches im Vergleich zum Rest des Stärkekorns wenig organisiert ist [FRENCH 1984]. Je dichter die Molekülpackung ist, desto weniger Wasser wird eingelagert. Wasserarme Schichten sind stärker lichtbrechend als wasserreiche. Amylopektin ist verantwortlich für die Ausbildung der kristallinen Bereiche der Stärkekörner [REIN 1993]. Aufgrund des geordneten Aufbaus zeigen die Stärkekörner anisotropes Verhalten in polarisiertem Licht.

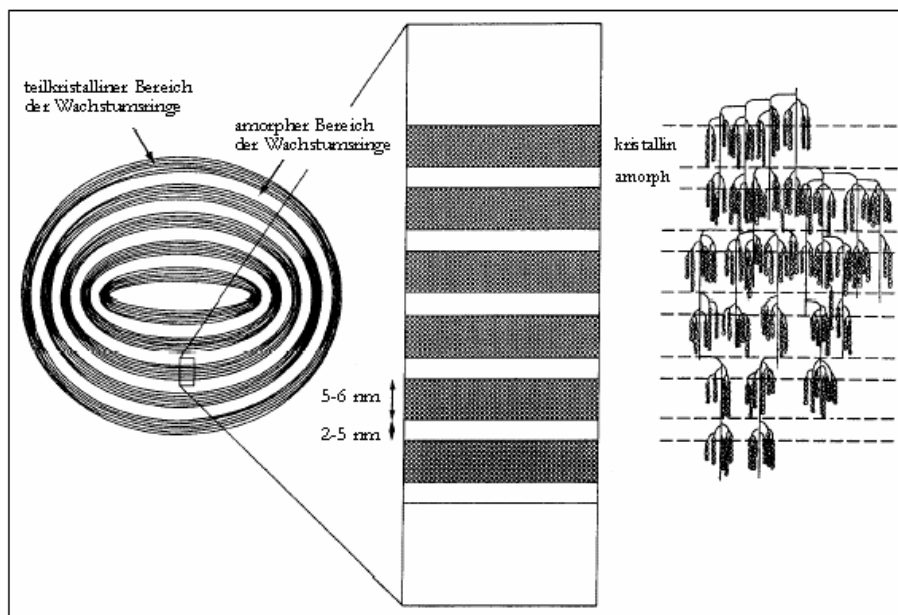


Abb. 12 Darstellung der kristallinen und amorphen Bereiche der Wachstumsringe eines Stärkekornes sowie innerhalb der Struktur des Amylopektins [TAN 2003, modifiziert].

#### 4.2.4 Bedeutung des Wassers

Jede Stärke liegt in einem von den Umweltbedingungen abhängigen Quellungszustand vor. Der in diesem Fall als Hydrationswasser bezeichnete Wasseranteil stellt neben der Amylose und dem Amylopektin einen Hauptbestandteil der Stärkekörner dar und kann bei Kartoffelstärke bis zu 20% betragen [SCHIERBAUM 1960a]. Ohne Veränderung der kolloiden Substanz ist eine vollständige Entfernung des Hydrationswassers nicht möglich. Da sich die Stärkekörner jedoch in einem Hydrationsgleichgewicht mit ihrer Umgebung befinden, ist eine begrenzte Aufnahme von Wasser möglich. Das Wasser ist somit entscheidend am Aufbau der Stärkekörner beteiligt und bedingt die Eigenschaften des Produktes Stärke [SCHIERBAUM und TÄUFEL 1963b, STERLING 1978]. In zahlreichen Untersuchungen haben SCHIERBAUM [SCHIERBAUM 1960b] sowie SCHIERBAUM und TÄUFEL [SCHIERBAUM und TÄUFEL 1962a,b, SCHIERBAUM und TÄUFEL 1963a,b] gezeigt, wie empfindlich die Stärkekörner zum Beispiel auf physikalische Trocknungsvorgänge reagieren und dadurch eine Beeinflussung ihrer Eigenschaften wie die Sorption bzw. Sorptionswärme, die Kaltwasserlöslichkeit und die Quellfähigkeit hervorgerufen wird. SCHIERBAUM et al. [SCHIERBAUM et al. 1962] haben zwischen absorptiv gebundenem und kapillarkondensiertem Wasser unterschieden.

Unter dem Einfluss von Wasser und Temperatur sind die Stärkekörner in ihrer strukturellen Organisation Veränderungen unterworfen. Zu den charakteristischen Eigenschaften der Stärken zählen die Quellung, die Verkleisterung und die Retrogradation. Jede Stärke besitzt ihre charakteristische Verkleisterungs- und Retrogradationstemperatur [EBERSTEIN et al. 1980, REIN 1993].

#### 4.2.4.1 Quellung

Während der Quellung erfolgt eine reversible Einlagerung von Wasser in das Gefüge der Stärkekörner beginnend mit den amorphen Bereichen, wobei es zum Aufbrechen und Neubilden von Wasserstoffbrückenbindungen kommt, und damit eine Volumenzunahme einhergeht. Parallel dazu ist ein Verlust der Doppelbrechung zu beobachten und am Verschwinden des Röntgenbeugungsspektrums auch der Verlust der teilkristallinen Struktur erkennbar. Die Quellkraft ist abhängig von der Stärkeart, genauer von der Menge verzweigter Kohlenhydrate, und der Temperatur [STERLING 1978]. Durch Diffusion ist ein Teil der Amylosemoleküle in der Lage, in Lösung zu gehen [YOUNG 1984].

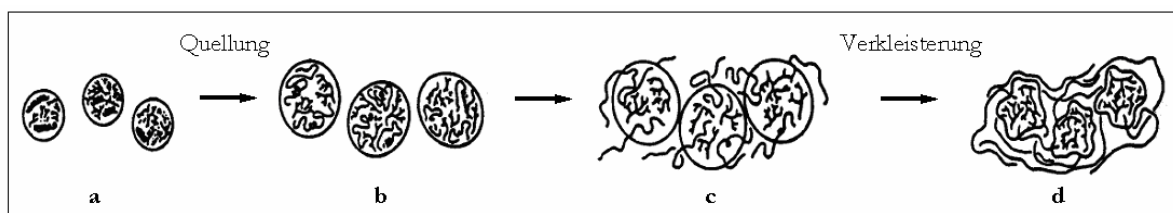


Abb. 13 Molekulare Veränderungen während der Quellung und der Verkleisterung der Stärkekörner; a) Stärkekörner vor Wasserzugabe, b) beginnende Quellung, c) Austritt der Amylose aus den gequollenen Stärkekörnern, d) verkleisterte Stärke [TAN 2003, modifiziert].

#### 4.2.4.2 Verkleisterung und Gelbildung

Der komplexe Vorgang der Verkleisterung (*gelatinisation*) ist ein endothermer Prozess [EBERSTEIN et al. 1980]. EBERSTEIN et al. [EBERSTEIN et al. 1980] stellten fest, dass dafür mindestens 20% Wasser notwendig sind. Erst oberhalb von 60% Wasser findet die Verkleisterung unabhängig von der Stärkekonzentration statt. Die Temperatur für eine vollständige Verkleisterung steigt mit sinkendem Wassergehalt [BURT und RUSSELL 1983].

Zunächst kommt es durch Einlagerung von Wasser zum Quellen des Stärkekorns mit den genannten morphologischen und physikalischen Veränderungen einschließlich starker Volumenvergrößerung und schließlich zur vollständigen Auflösung der zusammenhängenden Kornstruktur [STERLING 1978]. Das infolge der Verkleisterung entstehende Gel wird als „Stärkekleister“ bezeichnet.

Die Entwicklung einer Gelstruktur setzt voraus, dass sich ein dreidimensionales Netzwerk ausbildet. Die für Amylose notwendige kritische Gelbildungskonzentration, die unabhängig von der Kettenlänge ist, wurde mit 1% (m/V) ermittelt. Jedoch sind Konzentrationen von mehr als 2% (m/V) erforderlich, um Auswirkungen auf die rheologischen Eigenschaften der

Gele infolge molekularer Veränderungen beobachten zu können [GIDLEY 1989]. Das Schermodul als veränderliche Eigenschaft der Gelbildung ist abhängig von Konzentration und Kettenlänge der Amylose [CLARK et al. 1989], aber auch von der Retrogradation.

#### 4.2.4.3 Die Retrogradation

Die Retrogradation ist ein zeitabhängiger Prozess, der im Anschluss an eine Verkleisterung, das heißt im anschließenden Abkühlungsprozess, und im Verlauf der Lagerung zu beobachten

**Tab. 4 Zusammenstellung der Faktoren, von denen die Retrogradation abhängig ist.**

FAKTOR	BEZIEHUNG	REFERENZ
Stärkeart		ORFORD et al. 1987
Amylose- und Amylopektin-gehalt		EBERSTEIN et al. 1980, MILES et al. 1985b, RING et al. 1987, LEWEN et al. 2003
Konzentration	Geschwindigkeit der Retrogradation unabhängig von der Konzentration, aber je höher die Konzentration, desto stärker die sich entwickelnde Kristallinität	MILES et al. 1985a, RING et al. 1987, ORTEGA-OJEDA und ELIASSON 2001
	Ausmaß der Retrogradation von Konzentration abhängig	ORFORD et al. 1987, LEWEN et al. 2003
	Rekristallisation normalerweise in B-Modifikation, aber bei Reduktion des Wassers Ausbildung der A-Modifikation	MORGAN et al. 1992
Phosphat	hoher Phosphatgehalt unterdrückt die Retrogradation	THYGESEN et al. 2003
Kettenlänge	bei einem mittleren Polymerisationsgrad von 75 bis 80 ist die Retrogradation der Amylose maximal	PFANNEMÜLLER et al. 1971
Temperatur	niedrigere Temperaturen (0-5 °C) begünstigen Gelbildung und damit das Ausmaß der Retrogradation	RING et al. 1987, PAREDES-LOPEZ et al. 1994
	Abhängigkeit der Retrogradation von Verkleisterungstemperatur und Lagertemperatur	WINTER und KWAK 1987
pH	langsamere Retrogradation im Alkalischen	STERLING 1978, REIN 1993
Anwesenheit von Wasserstrukturbildnern	Fällung von schwer retrogradierenden Substanzen unter Zugabe von Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	REIN 1993
Anwesenheit von Kristallisationszentren	Begünstigung der Retrogradation	REIN 1993
Anwesenheit komplexierbarer Substanzen	Fällung von schwer retrogradierenden Substanzen unter Zugabe von n-Butanol	REIN 1993

ist [STERLING 1956]. Sowohl die Amylose als auch das Amylopektin sind in der Lage, durch Reorganisation der Stärkepolymere einen höheren Ordnungszustand einzunehmen [GOODFELLOW und WILSON 1990]. Die Retrogradation ist abhängig von der Konzentration und von der Art der Substanz [ORFORD et al. 1987], von der Verkleisterungs- und Lagertemperatur [STERLING 1978, WINTER und KWAK 1987], vom pH-Wert sowie von anwesenden Wasserstrukturbildnern und komplexierenden Substanzen [REIN 1993] (siehe dazu auch Tab. 4 und 5).

In einem ersten Schritt reorganisieren die amorph vorliegenden Moleküle die Doppelhelices. Diese können sich in einem folgenden Schritt zueinander ausrichten und aggregieren. In diesem Zusammenhang wird auch von einer Trennung in polymerreiche und –arme Bereiche gesprochen [MILES et al. 1984], welche sehr deutlich an einem Niederschlag der Lösungen bzw. einer zunehmenden Trübung der Kleister zu erkennen ist. Zur Charakterisierung der

**Tab. 5 Überblick der sich infolge Retrogradation und Gelbildung ändernden Eigenschaften**

<b>FAKTOR</b>	<b>BEZIEHUNG</b>	<b>REFERENZ</b>
Trübung/Homogenität	Zunahme der Trübung mit der Zeit (niedrige Konzentration – Ausbildung von Niederschlägen; höhere Konzentration – eintretende Trübung)	MILES et al. 1985a, RING et al. 1987
rheologische Eigenschaften	Zunahme des Schermoduls mit der Zeit  Schermodul abhängig von Konzentration und Substanzart Zunahme der Elastizität mit der Zeit	MILES et al. 1985a, RING et al. 1987, CLARK et al. 1989  ORFORD et al. 1987 STERLING 1956
Kristallinität	Zunahme der Kristallinität mit der Zeit	MILES et al. 1985a,b, RING et al. 1987, GIDLEY 1989, MORGAN et al. 1992
Reversibilität	Thermoreversibilität der Kristallisation von Amylopektin oberhalb 60 °C und von Amylose oberhalb 153 °C  vollständige Wiederauflösung der auskristallisierten Amylose ab etwa 160 °C  Auflösungstemperatur der kristallinen polymorphen Formen des B-Typs abhängig von der Kettenlänge	RING et al. 1987  EBERSTEIN et al. 1980  MOATES et al. 1997
Stabilität	Zunahme der Stabilität gegenüber saurer Hydrolyse  Abnahme der Verdaulichkeit durch $\alpha$ -Amylase	RING et al. 1987  FARHAT et al. 2001
Doppellichtbrechung	keine Rückbildung der doppellichtbrechenden Eigenschaften	STERLING 1978

Retrogradation werden daher die Entwicklung der Trübung [MILES et al. 1984] und die Veränderung rheologischer Eigenschaften herangezogen [MILES et al. 1985a, DOUBLIER und CHOPLIN 1989]. Am Ende steht die Ausbildung größerer kristalliner Bereiche, die für die zu beobachtende Zunahme der Kristallinität verantwortlich sind [VAN SOEST et al. 1994].

Röntgendiffraktometrische [MILES et al. 1985b, RING et al. 1987, GIDLEY 1989, SHAMAI et al. 2004] und NMR-spektroskopische Untersuchungen [MORGAN et al. 1992] geben Hinweise über die Ordnung der zu untersuchenden Systeme. Die sich ausbildenden Helices liegen als kristalline Modifikationen des B-Typs vor. MORGAN et al. [MORGAN et al. 1992] verringerten die verwendete Wassermenge und erhielten kristalline Modifikationen des A-Typs.

Zur Charakterisierung der exothermen Vorgänge der Retrogradation werden auch thermoanalytische Methoden wie DSC-Untersuchungen verwendet [MILES et al. 1985b]. EBERSTEIN et al. [EBERSTEIN et al. 1980] und MILES et al. [MILES et al. 1985b] zeigten, dass Amylose relativ schnell kristallisiert, wohingegen die Retrogradation von Amylopektin sehr viel langsamer abläuft. LEWEN et al. [LEWEN et al. 2003] beobachteten, dass innerhalb der ersten 24 Stunden die Retrogradation die Amylose dominiert und nach 24 Stunden die des Amylopektins.

Schwingungsspektroskopische Untersuchungen wie die IR- [WILSON und BELTON 1988, GOODFELLOW und WILSON 1990, WILSON et al. 1991] und die Raman-Spektroskopie [BULKIN et al. 1987] haben gezeigt, dass auch diese Methoden geeignet sind, Änderungen in der Konformation von Biopolymeren auf molekularer Ebene zu studieren und die Kinetiken der Vorgänge kontinuierlich zu verfolgen. GOODFELLOW und WILSON [GOODFELLOW und WILSON 1990] beobachteten, dass die Ausbildung der Doppelhelices als erster Schritt der Retrogradation von den kürzeren Seitenketten des Amylopektins schneller vollzogen wird, als dies bei den längeren Amyloseketten abläuft. BULKIN et al. [BULKIN et al. 1987] beschreiben einen vierstufigen Prozess, wobei zwei Konformationsänderungen zu beobachten sind, die ohne erkennbare Kristallinitätsänderung ablaufen und daher den Prozessen der Helix-Reorganisation und Helix-Helix-Aggregation zugesprochen werden.

Die Ergebnisse von EBERSTEIN et al. [EBERSTEIN et al. 1980], MILES et al. [MILES et al. 1985b] und GOODFELLOW und WILSON [GOODFELLOW und WILSON 1990] stehen in keinem Widerspruch zueinander. EBERSTEIN et al. [EBERSTEIN et al. 1980] und MILES et al. [MILES et al. 1985b] beschreiben den Gesamtprozess großer Moleküle. GOODFELLOW und WILSON [GOODFELLOW und WILSON 1990] hingegen betrachteten den Einzelprozess retrogradierender unverzweigter Ketten in Abhängigkeit ihrer Kettenlänge. Trotz kürzerer Seitenketten ist die Neuordnung des verzweigten Moleküls Amylopektin ein langwierigerer Prozess als die Retrogradation der Amylose.

#### 4.2.5 Stärkefilme

Stärkefilme aus bioabbaubaren Polymeren stellen eine Alternative zu Filmen aus synthetischen Polymeren wie Poly(meth)acrylaten und Vinylpolymeren dar. Native Stärken wie Mais-, Reis-, Hochamylosemais- und Wachsmaisstärke werden verwendet, um Filme herzustellen und deren Eigenschaften zu untersuchen. Die Druck- und Zugfestigkeit der Stärkefilme steigt mit zunehmendem Amylosegehalt [PALVIAINEN et al. 2001] und sowohl Amylose- als auch

Amylopektinfilme stellen gute Permeationsbarrieren für Sauerstoff dar [MARK et al. 1966, FORSELL et al. 2002]. Durch Zusatz von Weichmachern wie Sorbitol oder Glycerol aber auch durch Erhöhung des Wasseranteils sinkt die Festigkeit der Filme und die Barrierefunktion geht verloren [LAOHAKUNJIT und NOOMHORM 2004]. Unter Verwendung von Hochamylosemaisstärke als Pelletüberzug konnten PALVIAINEN et al. [PALVIAINEN et al. 2001] eine verzögerte Wirkstofffreisetzung belegen. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die höhere Kristallinität der Amylosefilme zu einer schlechteren Löslichkeit der Filme in wässrigen Medien führt [MYLLÄRINEN et al. 2002].

#### **4.2.6 Handelsübliche Stärken und ihre Verwendung in der pharmazeutischen Technologie**

Im Handel ist eine Vielzahl an Stärken vertreten, die entsprechend den unterschiedlichen Anforderungen der pharmazeutischen Technologie entwickelt wurden und ihren Einsatz finden.

Native Stärken nach dem Europäischen Arzneibuch sind Mais-, Weizen-, Reis- und Kartoffelstärke. Sie werden aufgrund ihrer sehr guten Wasser adsorbierenden Eigenschaften hauptsächlich als zerfallsbeschleunigende Hilfsstoffe in Tabletten und als Füllstoffe in Tabletten und Kapseln verwendet.

Weiterhin werden Modifizierungen an Stärken vorgenommen, die zum einen zu den vorverkleisterten Stärken führen, die infolge der zerstörten Stärkekornstruktur in kaltem Wasser löslich sind, und andererseits zu den substituierten Stärken wie Carboxymethylstärke oder Hydroxyethylstärke. Vorverkleisterte Stärken werden als Bindemittel für die Feuchtgranulierung eingesetzt sowie als Füllstoffe, zerfallsbeschleunigende und direkt komprimierbare Hilfsstoffe verwendet. Carboxymethylstärke ist aufgrund seiner sehr starken Wasser absorbierenden Eigenschaften und seines großen Quellvolumens ein Sprengmittel, welches bereits in geringsten Konzentrationen, 1 bis 5%, wirksam ist. Hydroxyethylstärke ist eine wasserlösliche Stärke und als Plasmaexpander zur intravenösen Applikation zugelassen.

#### **4.2.7 Raman-spektroskopische Untersuchungen an Stärken**

Raman-spektroskopische Untersuchungen an Stärken gibt es in der Literatur zahlreich, was vor allem darin begründet liegt, dass auch bei Anregungen im sichtbaren Licht keine Fluoreszenzprobleme auftreten.

Zunächst wurden, parallel zu den Cellulosen, Bandenzuordnungen für die Raman-Spektren der Stärken vorgenommen [CAEL et al. 1973, CAEL et al. 1975, GALAT 1980]. SEKKAL et al. [SEKKAL et al. 1995] wiesen die Bande bei etwa  $940\text{ cm}^{-1}$  der  $\alpha$ -glycosidischen Bindung der Stärken zu.

Die Raman-Spektroskopie wurde verwendet, um die Verkleisterung zu untersuchen [KIM et al. 1989, SCHUSTER et al. 2000], die Stärken zu identifizieren [DUPUY und LAUREYNS 2002] sowie Gehaltsanalysen von Substituenten an modifizierten Stärken vorzunehmen [PHILLIPS et al. 1998]. BULKIN et al. [BULKIN et al. 1987] verwendeten diese spektroskopische Methode zur Beschreibung der Kinetiken der Retrogradationsprozesse und konnte zeigen, dass die Gerüst-



und die CH-Valenzschwingungen sensitiv auf Veränderungen im Verlauf der Retrogradation reagieren. WINTER und KWAK [WINTER und KWAK 1987] untersuchten die Temperaturabhängigkeit der Retrogradation mittels Raman-Spektroskopie.

## 5 ERGEBNISSE

### 5.1 Allgemeiner Vergleich

Zunächst soll kurz auf die verwendeten Substanzklassen und die angewendeten Methoden vergleichend eingegangen werden.

Alle untersuchten Substanzklassen bestehen aus dem Grundbaustein D-Glucose. Trotzdem sind deutliche molekulare Unterschiede in den Raman-Spektren der Cellulosen, Celluloseether und Stärken zu erkennen (Abb. 14). Im Bereich der Gerüstschwingungen zwischen 200 und 700  $\text{cm}^{-1}$  besitzen die Stärken eine intensive Bande bei etwa 480  $\text{cm}^{-1}$ . Ebenso ist bei Cellulosen, MCC und PC, ein typisches Bandenmuster ausgeprägt, welches infolge der Einführung von Seitenketten bei den Celluloseethern nicht mehr zu finden ist. CH-Valenzschwingungen treten im Bereich zwischen 2.800 und 3.050  $\text{cm}^{-1}$  auf, wobei das Maximum der Cellulosen bei 2.894  $\text{cm}^{-1}$  und das der Stärken bei etwa 2.910  $\text{cm}^{-1}$  liegt. Die

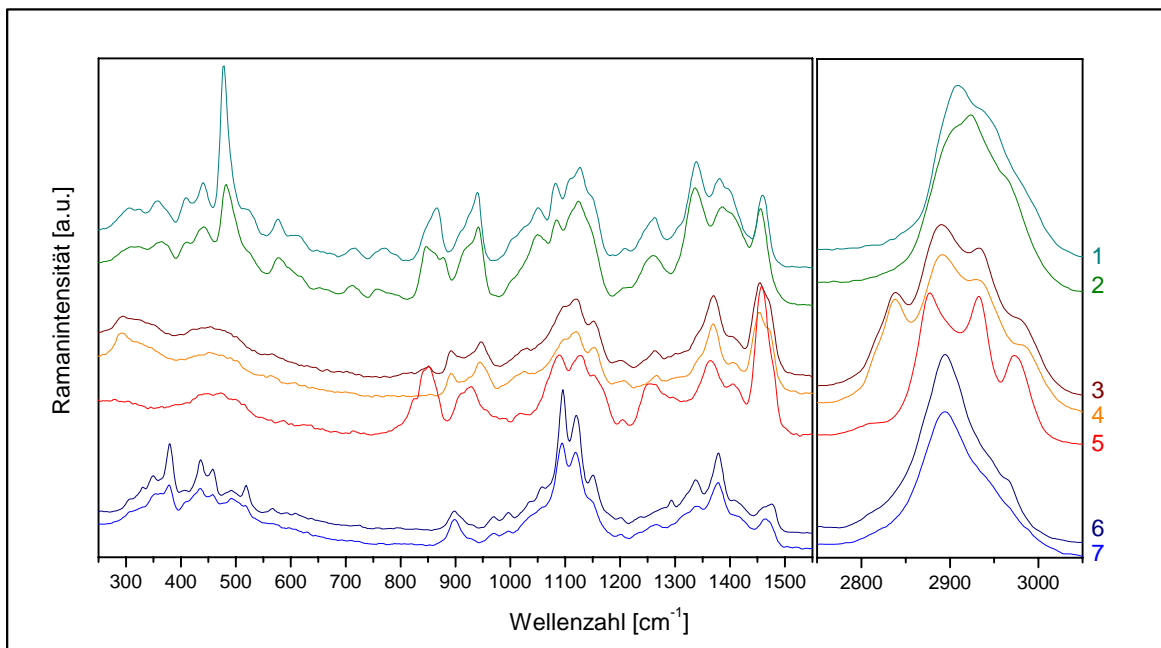


Abb. 14 Gegenüberstellung der Raman-Spektren der Stärken (1 Maisstärke, 2 Carboxymethylstärke), Celluloseether (3 HPMC, 4 MC, 5 HPC) und Cellulosen (6 MCC101, 7 PC).

Celluloseether zeigen in diesem Bereich eine deutliche Überlagerung mehrerer Banden, deren Charakteristik vom Substitutionsgrad abhängig ist. Die typische Bandenlage der  $\alpha$ -glycosidischen Bindung der Stärken befindet sich bei etwa  $940\text{ cm}^{-1}$ , wohingegen die  $\beta$ -glycosidische Bindung der Cellulosen und Celluloseether an den Banden in den Bereichen um  $500\text{ cm}^{-1}$ ,  $900\text{ cm}^{-1}$  und  $1.100\text{ cm}^{-1}$  zu erkennen ist [SEKKAL et al. 1995].

Die Rasterelektronenmikroskopie dokumentiert die Verschiedenheit der Substanzklassen auf morphologischer Ebene. Die hoch geordnete Faserstruktur der als Gerüstsubstanz in Zellwänden vorkommenden Cellulose ist auch in deren pharmazeutisch verwendeten Produkten, MCC und PC, zu finden. PC besteht aus feinen Einzelfasern. Die während der Herstellung von MCC eingesetzte Sprühtrocknung führt zu größeren, massiveren und homogeneren Partikeln. In Abb. 15A-C sind verschiedene Cellulosen abgebildet. Infolge der Substitution mit Seitenketten, wie dies bei der Gewinnung von Celluloseethern erfolgt, kommt es zur Auflockerung und zum teilweisen Verlust der Faserstruktur. Die veränderten Produkte sind in Abb. 15D-F zu sehen.

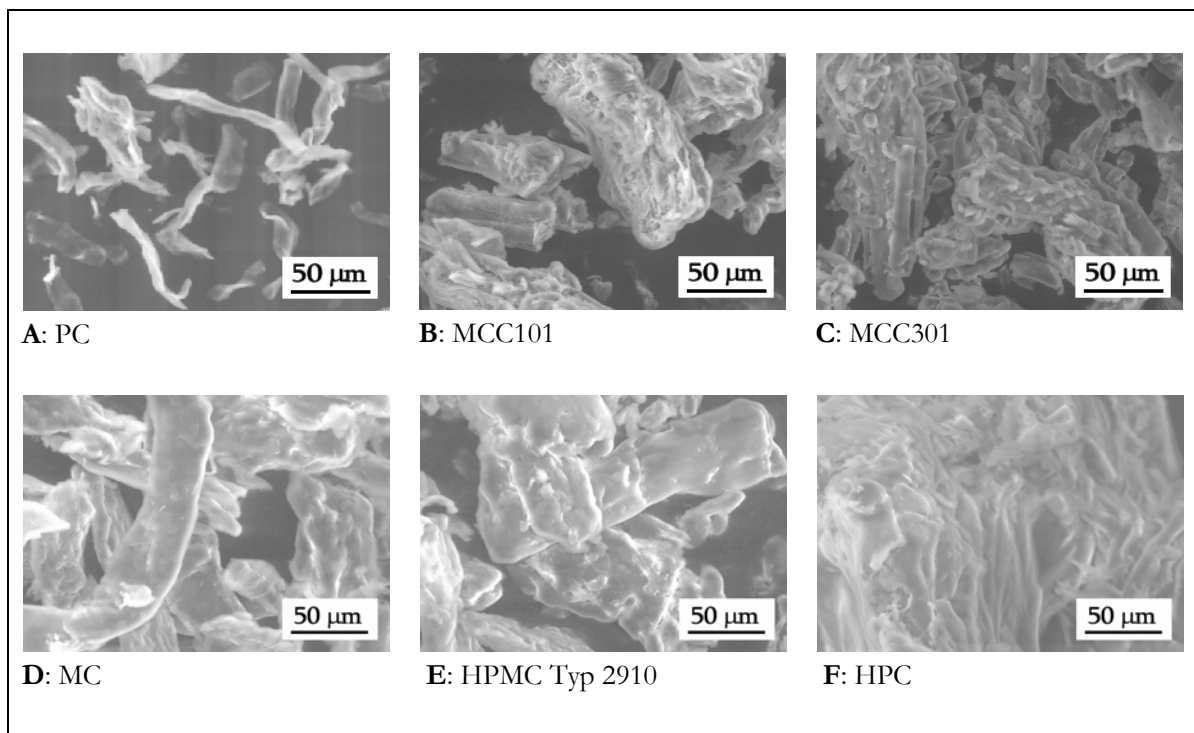
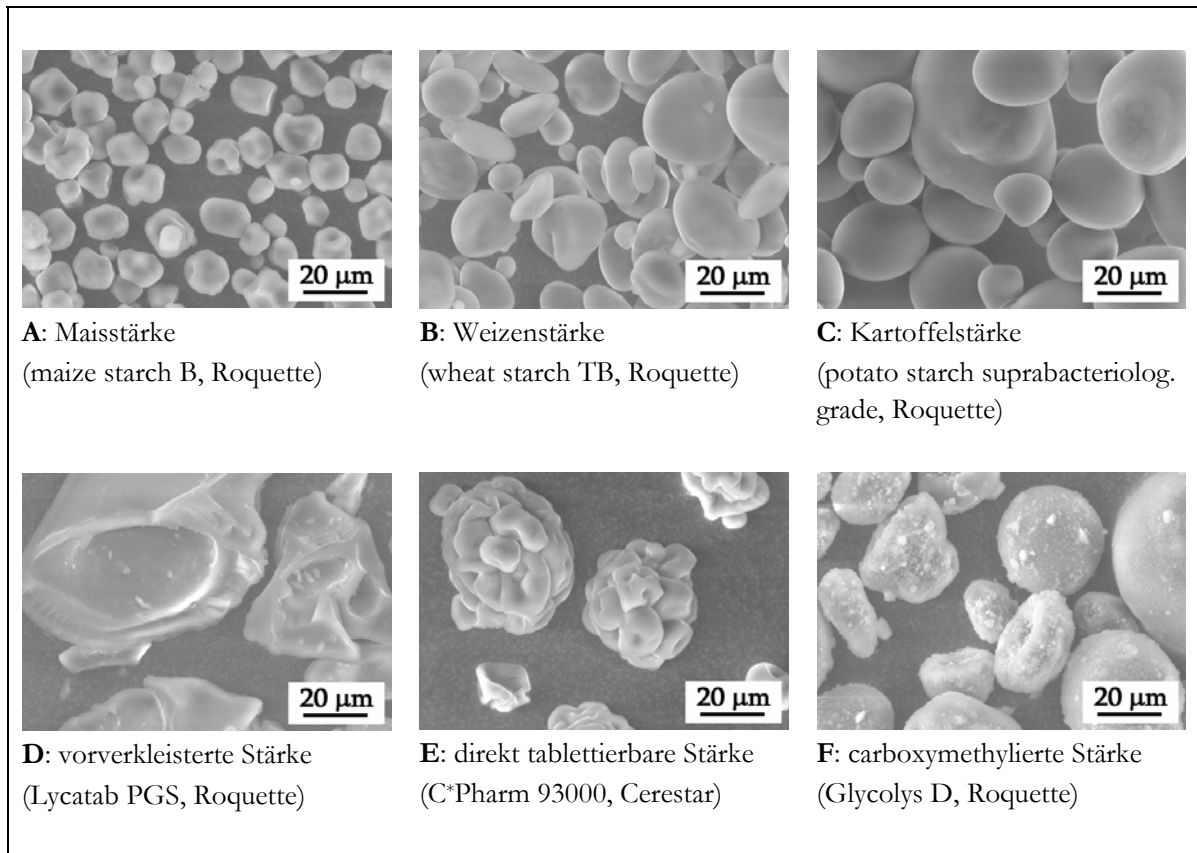


Abb. 15 ESEM-Aufnahmen der morphologischen Oberflächenstrukturen der Pulver verschiedener Cellulosen (A-C) und Celluloseether (D-F).

Im Gegensatz zu den Cellulosen dienen die Stärken als Reservestoffe und werden innerhalb der Pflanzen als Stärkekörner abgelagert. Native Stärkeprodukte werden aus der Pflanze durch Ausschleimung gewonnen, wobei die hoch geordnete Struktur der Stärkekörner erhalten bleibt. In Abb. 16A-C sind die für Mais-, Weizen- und Kartoffelstärke charakteristischen Stärkekörner abgebildet. Chemische Behandlung wie Substitution mit Hydroxyethyl- oder Carboxymethyl-Gruppen sowie die Einflüsse von Feuchte und Temperatur führen zur

Zerstörung der Stärkekornstruktur und zur Ausbildung neuer Produkte mit veränderten Eigenschaften (Abb. 16D-F).



**Abb. 16** ESEM-Aufnahmen der morphologischen Oberflächenstrukturen der Pulver verschiedener Stärken (die weißen Pfeile markieren Veränderungen der Kartoffelstärkekörner durch den Elektronenstrahl).

## 5.2 Extrusion/Sphäronisation von Cellulosen (Anlage 8.1)

Das Verhalten der Cellulosearten MCC und PC während der Extrusion/Sphäronisation wurde in Abhängigkeit unterschiedlicher relativer Feuchten untersucht. Die Beurteilung der entstandenen Pellets erfolgte auf molekularer Ebene mithilfe der Raman-Spektroskopie und auf morphologischer Ebene mittels ESEM-Technik.

Die Wechselwirkungen zwischen Cellulose und Wasser werden durch zwei verschiedene Modelle beschrieben. FIELDEN et al. [FIELDEN et al. 1988] verglichen die Immobilisierung großer Mengen Wasser in der Struktur der Cellulosen mit einem „molekularen Schwamm“. KLEINEBUDDE [KLEINEBUDDE 1997] erklärt mit dem „Kristallit-Gel-Modell“ die Ausbildung sogenannter Kristallit-Gele infolge der Scherkräfte während der Feuchtexttrusion. Durch Zerstörung der ursprünglichen Cellulosepartikel wird das Wasser gebunden und tritt durch mechanische Beanspruchung nicht wieder aus. Während der Extrusion bilden sich neue Netzwerkstrukturen aus, die für die Festigkeit der Pellets sorgen.

Vergleichende Untersuchungen zwischen PC und MCC wurden bereits durchgeführt und der Einfluss der unterschiedlichen Cellulose Typen beschrieben. KLEINEBUDDÉ et al. [KLEINEBUDDÉ et al. 2000] zeigten, dass nach dem Extrudieren die Partikelgröße der PC mit einem hohen Polymerisationsgrad und geringerem Kristallinitätsindex relativ unbeeinflusst ist, während die Größe der Partikel der MCC mit kleinerem Polymerisationsgrad und größerem Kristallinitätsindex abnehmen. Die Reduktion der Partikelgröße ist verbunden mit einer Zunahme der Oberfläche, wodurch mehr Wasser immobilisiert werden kann [JUMAA et al. 2000].

Im Laufe dieser Arbeit und mit Abschluss der Experimente zeigte sich, dass ein optimaler Hilfsstoff für die Extrusion/Sphäronisation, Eigenschaften beider oben beschriebener Modelle vereinen sollte, ein hohes Wasserbindevermögen, welches durch physikalische Einflüsse nicht gemindert wird. PC verhielt sich wie ein „molekularer Schwamm“ [FIELDEN et al. 1988], aber durch die während der Extrusion auf die Substanz einwirkenden Kräfte, wurde das freie Wasser abgepresst. PC musste als ungeeignet eingestuft und die Extrusion beendet werden. Die entstandenen Pellets zeigten eine lose Faserstruktur mit unebener Oberfläche. Im Gegensatz dazu konnten die verwendeten MCCs problemlos zur Herstellung von Pellets verwendet werden.

Mithilfe der elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden die Veränderungen der Cellulosefasern dokumentiert. Die Partikel der MCCs unterliegen mit abnehmender Feuchte einer stärkeren Zerkleinerung. Auch in den Raman-Spektren der unterschiedlich feuchten MCC-Pellets wurden Veränderungen beobachtet. OH-Valenzschwingungen werden durch Hydroxylgruppen der Glucosepolymere sowie durch Hydroxylgruppen des Wassers hervorgerufen. Eine Bandenlage bei  $3.230\text{ cm}^{-1}$  ist bei freiem Wasser zu beobachten und wurde für die Pellets mit einer relativen Feuchte von 163% und 197% nachgewiesen. Eine Verschiebung der Bandenlage zu  $3.274\text{ cm}^{-1}$  wie dies bei den Pellets mit 123% relativer Feuchte beobachtet wurde, deutete auf eine veränderte, festere Bindung des Wassers in den Kristallit-Gelen hin.

### **5.3 Wechselwirkungen von Wasser mit verschiedenen Celluloseethern (Anlage 8.2)**

Raman-Spektroskopie und ESEM-Technik dienten dazu, die Pulver, Gele und Filme der Celluloseether zu untersuchen. Zusätzlich wurden die Sorptions- und Desorptionseigenschaften der Pulver beurteilt sowie das Wasseraufnahmevermögen der Filme durch zeitaufgelöste Kontaktwinkelmessungen verglichen.

Sorption und Desorption charakterisieren das Wasseraufnahme- bzw. -abgabeverhalten bei konstanter Umgebungsfeuchte. Mittels Thermogravimetrie wird der Wasserverlust während einer kontinuierlichen Heizrate bestimmt. Durch den unterschiedlich starken Energieeintrag beider Methoden ergaben sich signifikante Unterschiede der Menge absorbierten Wassers von etwa 1%. Die unterschiedlichen Absorptionen von Wasser in die Pulver der HPMCs traten in

Abhängigkeit des Substitutionstyps auf und lassen eine Klassifizierung zu. Höchste Absorptionswerte zeigten die Celluloseether des HPMC-Typs 2208, die sich durch eine Kombination aus geringem Methyl- und hohem Hydroxypropylanteil auszeichnen. Die lipophilen Methylgruppen behindern die Wechselwirkungen mit Wassermolekülen, hingegen wird die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen durch die Hydroxylgruppen der Hydroxypropylmethylseitenketten gefördert. Ein steigendes Methyl/Hydroxypropyl-Substitutionsverhältnis korreliert mit einer geringeren Wasserabsorption [MALAMATARIS et al. 1994]. Der Verlauf der Sorptions- und Desorptionsisothermen zeichnete sich durch eine auftretende Hysterese fläche aus. Diese stehen in Zusammenhang mit höheren Bindungskräften zwischen Substanz und Wassermolekülen. Hysterese wurde bei allen Celluloseethern mit Ausnahme für HPC beobachtet, wobei im Falle dieser Cellulose auf eine weniger starke Bindung der monomolekularen Wasserschicht gegenüber den restlichen Celluloseethern geschlossen wurde.

Zu Beginn der Kontaktwinkelmessungen werden Informationen über Oberflächenenergien der Celluloseetherfilme erhalten, hingegen liefert der zeitliche Verlauf Aussagen über das Wasseraufnahmevermögen. Auffällig waren die hohen Kontaktwinkel der Celluloseetherfilme, die bei etwa  $90^\circ$  lagen und damit doppelt so groß waren, wie die von SEBTEI et al. [SEBTEI et al. 2003] beschriebenen. Der niedrigere Kontaktwinkel einer Cellulose wurde auf die löchrige Oberflächenstruktur und damit zusätzlich auftretende Kapillarkräfte zurückgeführt. HPC zeigte einen zweiteiligen Kurvenverlauf, welcher zu Beginn fünfmal schnellere Wasseraufnahme zeigte als im zweiten Teil der Kurve, der wiederum den restlichen Celluloseethern vergleichbar war. Eine Ursache könnte in der raueren Oberfläche begründet liegen, die zu stärkeren Kapillarkräften führen kann, und weiterhin im hydrophileren Charakter, der infolge des hohen Substitutionsgrades mit Hydroxypropylgruppen auftritt.

Die Raman-Spektren zeigten deutlich die molekularen Unterschiede zwischen den Celluloseethern in Form charakteristischer Bandenmuster (Abb. 14). Unter Verwendung der Cluster-Analyse konnten diese in die verschiedenen Substitutionstypen klassifiziert werden. Mit der Gelbildung ist die Ausbildung von neuen Wasserstoffbrückenbindungen und netzartigen Strukturen verbunden. Diese Änderung der molekularen Struktur im Vergleich zum Pulver führte zu deutlichen Bandenverschiebungen im gesamten Bereich der Raman-Spektren. Nach dem Trocknen der Gele und Bildung der entsprechenden Filme wiesen deren Spektren im Vergleich zum Pulver noch immer einzelne verschobene Banden auf. Daraus wurde geschlossen, dass in den Celluloseetherfilmen die Netzwerkstruktur der Gele erhalten geblieben ist.

Es wurde eine Methode entwickelt, Quellungsversuche an Celluloseetherfilmen *in situ* zu verfolgen und deren Auswirkungen quantitativ zu erfassen. Die Filme wurden dafür mit einer Silberschicht definierter Struktur versehen. Die vor, während und nach der *in situ*-Quellung aufgenommenen ESEM-Bilder wurden anschließend mithilfe der Grauwertanalyse ausgewertet und die Veränderungen der Silberschicht infolge der Wassereinwirkung vermessen. Die untersuchten Celluloseetherfilme zeigten ähnliches Quellverhalten mit beobachteten Änderungen zwischen 10 und 20%.

## 5.4 Retrogradation verschiedener Stärken (Anlage 8.3)

Bei der Erwärmung von Stärke-Wasser-Mischungen über die jeweilige charakteristische Verkleisterungstemperatur gehen die Stärkemoleküle in den amorphen Zustand über. Charakteristisch für Stärken ist die Reorganisation der räumlichen Struktur der Stärkemoleküle während der Abkühlung und Lagerung, die als Retrogradation bezeichnet wird. Basierend auf den Untersuchungen von BULKIN et al. [BULKIN et al. 1987] wurde das Retrogradationsverhalten verschiedener Stärkeprodukte mithilfe der Raman-Spektroskopie untersucht. BULKIN et al. [BULKIN et al. 1987] zeigten, dass die Raman-Spektroskopie eine geeignete Methode darstellt, die Kinetik von Retrogradationsprozessen kontinuierlich auf molekularer Ebene zu verfolgen. Die Ergebnisse wurden durch Röntgendiffraktometrische Untersuchungen bestätigt.

Die in mehreren Stufen ablaufende Retrogradation vollzieht sich in Abhängigkeit der vorliegenden Struktur unterschiedlich schnell. Die Rückbildung der Helices der kurzen Seitenketten des Amylopektins erfolgt schneller als die der langkettigen Amyloseketten. Im Gegensatz dazu findet die Helix-Helix-Aggregation bei Amylopektin aufgrund der Verzweigungen sehr viel langsamer statt als bei der Amylose.

Im Rahmen der Experimente konnte für die vorverkleisterte Amylose-reiche Stärke ein vierstufiger Prozess der Retrogradation gezeigt werden. Für die Wachsstärken Pregeflo C100 und Waxilys 200 ist der erste Schritt der Retrogradation, die Reorganisation der Helices, nicht nachweisbar, da hierfür die Messzeiten pro Spektrum des verwendeten Raman-Spektrometers mit etwa 12 Minuten zu lang waren. Mischungen aus Amylose und Amylopektin wie sie bei den nativen Stärken anzutreffen sind, erlauben keine Trennung der einzelnen Prozesse, da es zu einer Überlagerung der Informationen auf molekularer Ebene kommt. Eine Zunahme der Ordnung kann anhand der abnehmenden Bandenbreite dokumentiert werden, deren Ausmaß bei Kartoffelstärke ausgeprägter war als bei Mais- und Weizenstärke.

Im Unterschied zu REIN und STEFFENS [REIN und STEFFENS 1997], die mithilfe der DSC für die Kartoffelstärke keine Retrogradationsprozesse messen konnten, wurde auch für diese Stärke eine Veränderung der molekularen Strukturen erfasst. Eine Ursache könnte in den unterschiedlichen Abkühlprozessen liegen, die verschiedene Bedingungen für die ablaufende Retrogradation schaffen. Bei BULKIN et al. [BULKIN et al. 1987], VAN SOEST et al. [VAN SOEST et al. 1994] und ORFORD et al. [ORFORD et al. 1987] sowie in den beschriebenen Experimenten wurde rasch bis zu einer definierten Temperatur gekühlt, wohingegen REIN und STEFFENS [REIN und STEFFENS 1997] mit einem Temperaturgradienten arbeiteten und somit die Proben langsam abkühlten.

## 5.5 Einfluss von Wasser auf die molekulare und morphologische Struktur von Stärken (Anlage 8.4)

Wie die wasserlöslichen Celluloseether sind auch die Stärken in der Lage, dreidimensionale, netzartige Strukturen auszubilden, die im feuchten Zustand als so genannte Stärkekleister bezeichnet werden und im getrockneten Zustand Filme bilden. Die Stärkeprodukte wurden deshalb ebenso wie die Celluloseether (Anlage 8.2) auf Wasserbinde- und -aufnahmevermögen mittels Thermogravimetrie, Sorptions/Desorptions- und Kontaktwinkel-Messungen untersucht sowie molekular und morphologisch mit Raman-Spektroskopie bzw. ESEM-Technik beurteilt.

Die molekularen Unterschiede zwischen den verschiedenen handelsüblichen Stärkeprodukten beruhen vor allem auf deren chemischer und/oder physikalischer Vorbehandlung. So konnten anhand der Raman-Spektren deutliche Unterschiede zwischen nativen und modifizierten Stärken beschrieben werden. Die Cluster-Analyse erlaubte auch in diesem Fall die Klassifizierung, wobei ebenfalls eine Trennung zwischen den rein physikalisch vorbehandelten Stärken und den chemisch modifizierten Stärken gezeigt werden konnte. Dies beruht auf neuen bzw. verschobenen Banden, die infolge der Substitution auftreten [FORREST und COVE 1992, PHILLIPS et al. 1998]. Molekulare Veränderungen, die durch den Einfluss von Temperatur auf Stärke-Wasser-Mischungen auftreten und von SCHUSTER et al. [SCHUSTER et al. 2000] beschrieben wurden, konnten kontinuierlich innerhalb der Raman-Spektren verfolgt werden. So ist im Bereich der Gerüstschwingungen bei  $600\text{ cm}^{-1}$  das Verschwinden einer Doppelbande während der Verkleisterung nachzuvollziehen.

Das Wasserbindevermögen der Produkte wird durch hydrophile Substituenten wie die Carboxymethyl- oder Hydroxyethylgruppen stark gesteigert, bis hin zur Wasserlöslichkeit der Hydroxyethylstärke. Die Ergebnisse zeigten, dass große Unterschiede zum Beispiel innerhalb der nativen Stärkeprodukte existierten. So zeigte die Kartoffelstärke im Vergleich zu Mais- und Weizenstärke vor allem im Wasserbindevermögen des Pulvers sowie im Wasseraufnahmevermögen der Filme ein differenziertes Verhalten und war eher mit den vorverkleisterten Stärkeprodukten zu vergleichen. Die Kontaktwinkeluntersuchungen der Filme dokumentierten, dass Stärkefilme, die wie die Wachsstärken reich an Amylopektin sind, sowohl hohe Kontaktwinkel aufwiesen als auch ein höheres Wasseraufnahmevermögen. Die Kontaktwinkel der Stärkefilme lagen bei über  $90^\circ$ , Ausnahmen stellten die Mais- und Weizenfilme mit  $76^\circ$  bzw.  $55^\circ$  dar. Für die wasserlösliche Stärke wurde ein Kontaktwinkel von  $60^\circ$  nachgewiesen. Dies kann auch auf ein unterschiedliches Retrogradationsverhalten der Stärken zurückgeführt werden. Kartoffelstärke zeigt eine stärkere Retrogradation (Anlage 8.3), ist aus diesem Grund hydrophober und zeigt deshalb höhere Kontaktwinkel als Mais- und Weizenstärke.

Die *in situ*-Quellungsversuche wurden auch bei den Stärkefilmen durchgeführt und wiesen auf Unterschiede zwischen den verschiedenen Filmen hin. Für die vorverkleisterte Amylose-reiche Stärke und die vorverkleisterte Wachsstärke Pregeflo C100 zeigten eine schlechte bzw. keine Quellung. Filme dieser Stärken haben infolge der Retrogradation eine höhere Kristallinität, wie



dies von MYLLÄRINEN et al. [MYLLÄRINEN et al. 2002] an Stärken mit hohem Amylosegehalt nachgewiesen wurde. Auch die verschiedenen untersuchten Wachsstärken retrogradieren, wie durch die Untersuchung der Retrogradation verschiedener Stärken (Anlage 8.3) gezeigt werden konnte.

## 6 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Im Rahmen dieser Arbeit wurden erstmalig pharmazeutische Hilfsstoffe mittels Raman-Spektroskopie in Kombination mit der atmosphärischen Rasterelektronenmikroskopie untersucht. Pharmazeutische Hilfsstoffe wie Stärken und Cellulosen dienen der Herstellung von Arzneimitteln, die auf unterschiedliche Weise im menschlichen oder tierischen Organismus ihre Wirkung entfalten. Es ist daher wichtig, Wechselwirkungen, die in Gegenwart von Wasser bzw. wässrigen Medien auftreten, zu untersuchen. Sowohl die Raman-Spektroskopie als auch die atmosphärischen Rasterelektronenmikroskopie ermöglichen Experimente mit Wasser bzw. in wässriger Umgebung.

Die Raman-Spektroskopie hat sich in Bezug auf pharmazeutische Hilfsstoffe als geeignete Methode zur Charakterisierung molekularer Eigenschaften auch polarer Verbindungen erwiesen. Sowohl die Differenzierung verschiedener Materialien, Zustände wie Pulver, Gele oder Filme als auch Wassereinflüsse konnten gezeigt werden.

Für morphologische Untersuchungen stand die ESEM-Technik zur Verfügung, welche Untersuchungen pharmazeutischer Materialien in wässriger Umgebung sowie von wasserhaltigen Proben ermöglichte. Eine bessere Auflösung und Tiefenschärfe sind entscheidende Vorteile gegenüber der Lichtmikroskopie. Die für die konventionelle REM notwendige Probenpräparation entfiel und zeitnahe Untersuchungen zu Herstellungsprozessen, Experimente an originalbelassenen Proben sowie *in situ*-Experimente konnten durchgeführt werden.

Vielfältige Informationen über das Verhalten pharmazeutischer Hilfsstoffe werden durch Untersuchungen molekularer und morphologischer Eigenschaften erhalten. Der Kopplung von Raman-Spektroskopie und atmosphärischer Rasterelektronenmikroskopie sollte im Hinblick auf die simultane Untersuchung morphologischer und molekularer Materialeigenschaften weiter nachgegangen und zukünftig auch für pharmazeutische Forschungen angewendet werden. Gerade für die vielfältigen Reaktionen, die bei der Wirkung von Arzneimitteln im menschlichen Organismus mit Wasser auftreten, bieten die Raman-Spektroskopie und die ESEM-Technik vielseitige Verwendungsmöglichkeiten.

## 7 LITERATUR

- [AKSENOV et al. 2001] Y. Y. AKSENOV, A. VAN APELDOOM, E. G. J. REINDERS, J. GREVE, C. VAN BLITTERSWIJK, J. DE BRUIJN, C. OTTO (2001). Integration of confocal Raman microscope with an electron microscope. Posterpräsentation, 9<sup>th</sup> European Conference on the Spectroscopy of Biological Molecules, Prag. ([http://tnweb.tn.utwente.nl/bft/research/bce/applications/Theme4Instrumentation/Inc\\_raman\\_electron\\_microscopy\\_\(yuri\)/YuriAksenoff.pdf](http://tnweb.tn.utwente.nl/bft/research/bce/applications/Theme4Instrumentation/Inc_raman_electron_microscopy_(yuri)/YuriAksenoff.pdf))
- [ALDERMAN 1984] D. A. ALDERMAN (1984). A review of cellulose ethers in hydrophilic matrices for oral controlled-released dosage forms. *International Journal of Pharmaceutical Technology and Product Manufacture* 5(3), 1-9.
- [ALVAREZ-LORENZO et al. 1999] C. ALVAREZ-LORENZO, R. A. LORENZO-FERREIRA, J. L. GOMEZ-AMOZA, R. MARTINEZ-PACHECO, C. SOUTO, A. CONCHEIRO (1999). A comparison of gas-liquid chromatography, NMR spectroscopy and Raman spectroscopy for determination of the substituent content of general non-ionic cellulose ethers. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 20, 373-383.
- [AMIDON und HOUGHTON 1995] G. E. AMIDON, M. E. HOUGHTON (1995). The Effect of Moisture on the Mechanical and Powder Flow Properties of Microcrystalline Cellulose. *Pharmaceutical Research* 12(6), 923-929.
- [ATALLA et al. 1980] R. H. ATALLA, J. C. GAST, D. W. SINDORF, V. J. BARTUSKA, G. E. MACIEL (1980). <sup>13</sup>C NMR Spectra of Cellulose Polymorphs. *Journal of the American Chemical Society* 102(9), 3249-3251.
- [ATALLA 1983] R. H. ATALLA (1983). The structure of cellulose: quantitative analysis by Raman spectroscopy. *Journal of Applied Polymer Science: Applied Polymer Symposium* 37, 295-301.
- [BAEHR et al. 1991] M. BAEHR, C. FÜHRER, J. PULS (1991). Molecular Weight Distribution, Hemicellulose Content and Batch Conformity of Pharmaceutical Cellulose Powders. *European Journal of Phamaceutics and Biopharmaceutics* 37(3), 136-141.
- [BANWELL und MCCASH 1999] C. N. BANWELL, E. M. MCCASH (Übers. W. A. KREINER, 1999). *Molekülspektroskopie: Ein Grundkurs*. R. Oldenbourg Verlag, München.
- [BATAILLE et al. 1997] B. BATAILLE, A. AMOURDEDIEU, D. SONAGLIO, A. TEROL, G. CASSANAS, M. JACOB, A. PUECH (1997). Preformulation in extrusion-spheronization : behavioural study of two microcel cellulose grades. *Pharmazie* 52(2), 138-144.

- [BATES et al. 1943] F. L. BATES, D. FRENCH, R. E. RUNDLE (1943). Amylose and Amylopectin Content of Starches Determined by their Iodine Complex Formation. *Journal of the American Chemical Society* 65(2), 142-148.
- [BEAR 1942] R. S. BEAR (1942). The Significance of the „V“ X-Ray Diffraction Patterns of Starches. *Journal of the American Chemical Society* 64(6), 1388-1392.
- [BLACKWELL et al. 1970] J. BLACKWELL, P. D. VASKO, J. L. KOENIG (1970). Infrared and Raman Spectra of the Cellulose from the Cell Wall of *Valonia ventricosa*. *Journal of Applied Physics* 41(11), 4375-4379.
- [BRITTAİN et al. 1991] H. G. BRITTAİN, S. J. BOGDANOWICH, D. E. BUGAY, J. DEVINCENTIS, G. LEWEN, A. W. NEWMAN (1991). Physical Characterization of Pharmaceutical Solids. *Pharmaceutical Research* 8(8), 963-973.
- [BUGAY und FINDLAY 1999] D. E. BUGAY, W. P. FINDLAY (1999). Vibrational spectroscopy. In: D. E. BUGAY, W. P. FINDLAY (eds.) *Pharmaceutical Excipients. Characterization by IR, Raman, and NMR Spectroscopy*. [In: *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, 1999, 94] Marcel Dekker, New York, 1-9.
- [BUGAY 2001] D. E. BUGAY (2001). Characterization of the solid-state: spectroscopic techniques. *Advanced Drug Delivery Reviews* 48(1), 43-65.
- [BULKIN et al. 1987] B. J. BULKIN, Y. KWAK, I. C. M. DEA (1987). Retrogradation kinetics of waxy-corn and potato starches; a rapid, Raman-spectroscopic study. *Carbohydrate Research* 160, 95-112.
- [BURT und RUSSELL 1983] D. J. BURT, P. L. RUSSELL (1983). Gelatinization of Low Water Content Wheat Starch – Water Mixtures: A Combined Study by Differential Scanning Calorimetry and Light Microscopy. *Starch/Stärke* 35(10), 354-360.
- [CAEL et al. 1973] J. J. CAEL, J. L. KOENIG, J. BLACKWELL (1973). Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates. Part III: Raman spectra of the polymorphic forms of amylose. *Carbohydrate Research* 29(1), 123-134.
- [CAEL et al. 1975] J. J. CAEL, J. L. KOENIG, J. BLACKWELL (1975). Infrared and Raman Spectroscopy of Carbohydrates. Part VI: Normal Coordinate Analysis of V-Amylose. *Biopolymers* 14(9), 1185-1903.
- [CAMERON 1994] R. E. CAMERON (1994). Environmental Scanning Electron Microscopy in Polymer Science. *Trends in Polymer Science* 2(4), 116-120.
- [CHASE 2002] B. CHASE (2002). Fourier Transform Near-infrared Raman Spectroscopy. In: J. M. CHALMERS, P. R. GRIFFITHS (eds.) *Handbook of Vibrational Spectroscopy. Volume 1. Theory and Instrumentation*. John Wiley & Sons, Chichester, 522-533.
- [CLARK et al. 1989] A. H. CLARK, M. J. GIDLEY, R. K. RICHARDSON, S. B. ROSS-MURPHY (1989). Rheological Studies of Aqueous Amylose Gel: The Effect of Chain Length and Concentration on Gel Modulus. *Macromolecules* 22(1), 346-351.

- [COLTHUP et al. 1990] N. B. COLTHUP, L. H. DALY, S. E. WIBERLY (1990). Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy. Academic Press, London, 3. Auflage.
- [CURA et al. 1995] J. A. CURA, P. E. JANSSON, C. R. KRISMAN (1995). Amylose is not Strictly Linear. *Starch/Stärke* 47(6), 207-209.
- [DAB 1994] Kommentar zum DAB 10 (1994). Methylcellulose. In: Kommentar zum Deutschen Arzneibuch, Band Monografien. Deutscher Apothekerverlag, Stuttgart, 3. Nachtrag.
- [DENG et al. 2002] C. S. DENG, C. BREEN, J. YARWOOD, S. HABESCH, J. PHIPPS, B. CRASTER, G. MAITLAND (2002). Ageing of oilfield cement at high humidity: a combined FEG-ESEM and Raman microscopic investigation. *Journal of Materials Chemistry* 12(10), 3105-3112.
- [DHAMELINCOURT 2002] P. DHAMELINCOURT (2002). Raman Microscopy. In: J. M. CHALMERS, P. R. GRIFFITHS (eds.) *Handbook of Vibrational Spectroscopy. Volume 2. Sampling Techniques.* John Wiley & Sons, Chichester, 1419-1428.
- [DONALD 2002] A. M. DONALD (2002). No Need To Dry – Environmental Scanning Electron Microscopy Of Hydrated Systems. *Materials Research Society Symposium Proceedings* 711, 93-100.
- [DONALD 2003] A. M. DONALD (2003). The use of environmental scanning electron microscopy for imaging wet and insulating materials. *Nature materials* 2(8), 511-516.
- [DOUBLIER und CHOPLIN 1989] J. L. DOUBLIER, L. CHOPLIN (1989). A rheological description of amylose gelation. *Carbohydrate Research* 193, 215-226.
- [DOW 1995] Formulating for Controlled Release with METHOCEL Premium cellulose ethers. The Dow Chemical Company, USA.
- [DUPUY und LAUREYNS 2002] N. DUPUY, J. LAUREYNS (2002). Recognition of starches by Raman spectroscopy. *Carbohydrate Polymers* 49(1), 83-90.
- [EBERSTEIN et al. 1980] K. EBERSTEIN, R. HÖPCKE, G. KONIECZNY-JANDA, R. STUTE (1980). DSC studies on starches. Part I. Possible thermoanalytical methods for characterizing starches. *Starch/Stärke* 32(12), 397-404.
- [EDWARDS et al. 1994] H. G. M. EDWARDS, D. W. FARWELL, A. C. WILLIAMS (1994). FT-Raman spectrum of cotton: a polymeric biomolecular analysis. *Spectrochimica Acta Part A* 50(4), 807-811.
- [EDWARDS et al. 1997] H. G. M. EDWARDS, D. W. FARWELL, D. WEBSTER (1994). FT-Raman microscopy of untreated natural plant fibres. *Spectrochimica Acta Part A* 53(13), 2383-2392.
- [EICHHORN et al. 2000] S. J. EICHHORN, M. HUGHES, R. SNELL, L. MOTT (2000). Strain induced shifts in the Raman spectra of natural cellulose fibers. *Journal of Materials Science Letters* 19(8), 721-723.
- [EK et al. 1995] R. EK, P. WORMALD, J. ÖSTELIUS, T. IVERSEN, C. NYSTRÖM (1995). Crystallinity index of microcrystalline cellulose particles compressed into tablets. *International Journal of Pharmaceutics* 125(2), 257-264.

- [EUAB 2002] EUROPÄISCHE ARZNEIBUCHKOMMISSION (2002). 2.2.48 Raman-Spektroskopie. In: Europäisches Arzneibuch. Band 1. Allgemeiner Teil. Deutscher Apothekerverlag, Stuttgart, 4. Auflage, 87-89.
- [EUAB 2004] EUROPÄISCHE ARZNEIBUCHKOMMISSION (2004). Mikrokristalline Cellulose. In: Kommentar zum Europäischen Arzneibuch. Monographien. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart.
- [EVERALL 1994] N. EVERALL (1994). Quantitative Study of Self-Absorption in Near-Infrared Transform Raman Spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy* 25(10), 813-819.
- [FARHAT et al. 2001] I. A. FARHAT, J. PROTZMANN, A. BECKER, B. VALLÈS-PÀMIES, R. NEALE, S. E. HILL (2001). Effect of the Extent of Conversion and Retrogradation on the Digestibility of Potato Starch. *Starch/Stärke* 53(5), 431-436.
- [FHI] Freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Fraunhofer-Institut für Werkstoffmechanik Halle.
- [FIELDEN et al. 1988] K. E. FIELDEN, J. M. NEWTON, P. O'BRIEN, R. C. ROWE (1988). Thermal Studies on the Interaction of Water and Microcrystalline Cellulose. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 40(10), 674-678.
- [FORREST und COVE 1992] B. FORREST, L. COVE (1992). Identification and Quantitation of Hydroxypropylation of Starch by FTIR. *Starch/Stärke* 44(5), 179-183.
- [FORSSELL et al. 2002] P. FORSELL, R. LAHTINEN, M. LAHELIN, P. MYLLÄRINEN (2002). Oxygen permeability of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers* 47, 125-129.
- [FRENCH 1984] D. FRENCH (1984). Organization of starch Granules. In: R. L. WHISTLER, J. N. BEMILLER, E. F. PASCHALL (eds.) *Starch: Chemistry and Technology*. Academic Press, London, 2. Auflage, 183-247.
- [FREUDE 2003a] D. FREUDE (2003). Spektroskopie. 1. Einführung in die theoretischen und experimentellen Grundlagen. Skript ([http://ingo.exphysik.uni-leipzig.de/freude\\_spec\\_skripte.html](http://ingo.exphysik.uni-leipzig.de/freude_spec_skripte.html)).
- [FREUDE 2003b] D. FREUDE (2003). Spektroskopie. 7. Experimentelle Verfahren in der optischen Spektroskopie. Skript ([http://ingo.exphysik.uni-leipzig.de/freude\\_spec\\_skripte.html](http://ingo.exphysik.uni-leipzig.de/freude_spec_skripte.html)).
- [FROST et al. 1999] R. FROST, T. KLOPROGGE, J. SCHMIDT (1999). Non-destructive identification of minerals by Raman microscopy. *The Internet Journal of Vibrational Spectroscopy* 3, 4, 2 (<http://www.ijvs.com>).
- [GALAT 1980] A. GALAT (1980). Study of the Raman scattering and infrared absorption spectra of branched polysaccharides. *Acta Biochimica Polonica* 27(2), 135-142.
- [GAO und MEURY 1996] P. GAO, R. H. MEURY (1996). Swelling of Hydroxypropyl Methylcellulose Matrix Tablets. 1. Characterization of Swelling Using a Novel Optical Imaging Method. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 85(7), 725-731.

- [GIDLEY 1989] M. J. GIDLEY (1989). Molecular Mechanisms Underlying Amylose Aggregation and Gelation. *Macromolecules* 22(1), 351-358.
- [GOODFELLOW und WILSON 1990] B. J. GOODFELLOW, R. H. WILSON (1990). A Fourier Transform IR Study of the Gelation of Amylose and Amylopectin. *Biopolymers* 30(13/14), 1183-1189.
- [GOODHEW und HUMPHREYS 1991] P. J. GOODHEW, F. J. HUMPHREYS. (Übers. U. CLEWING, 1991). *Elektronenmikroskopie: Grundlagen und Anwendung*. McGraw-Hill Book Company, Maidenhead.
- [GORAL und ZICHY 1990] J. GORAL, V. ZICHY (1990). Fourier Transform Raman studies of materials and compounds of biological importance. *Spectrochimica Acta Part A* 46(2), 253-275.
- [GRUNENBERG et al. 1995] A. GRUNENBERG, B. KEIL, J. O. HENCK (1995). Polymorphism in binary mixtures, as exemplified by nimodipine. *International Journal of Pharmaceutics* 118(1), 11-21.
- [GÜNZLER und GREMLICH 2003] H. GÜNZLER, H. U. GREMLICH (2003). *IR-Spektroskopie: Eine Einführung*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 4. Auflage.
- [GUSTAFSSON et al. 1999] C. GUSTAFSSON, M. C. BONFERONI, C. CARAMELLA, H. LENNHOLM, C. NYSTRÖM (1999). Characterisation of particle properties and compaction behaviour of hydroxypropyl methylcellulose with different degrees of methoxy/hydroxypropyl substitution. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 9(2), 171-184.
- [GUSTAFSSON 2000] C. GUSTAFSSON (2000). *Solid State Characterisation and compaction Behaviour of Pharmaceutical Materials*. Dissertation, Universität Uppsala.
- [HAMMOND und CLARK 2002] S. V. HAMMOND, F. C. CLARK (2002). Near-infrared Microspectroscopy. In: J. M. CHALMERS, P. R. GRIFFITHS (eds.) *Handbook of Vibrational Spectroscopy*. Volume 2. Sampling Technique. John Wiley & Sons, Chichester, 1405-1418.
- [HEILMANN et al. 2005] A. HEILMANN, A. KIESOW, M. FÜTING, P. KLEINEBUDDE, P. M. FECHNER, R. H. H. NEUBERT (2005). Charakterisierung pharmazeutischer Hilfsstoffe mittels atmosphärischer Rasterelektronenmikroskopie. *Deutsche Apotheker Zeitung* (eingereicht).
- [HENDRA 2000] P. J. HENDRA (2000). The problem of sample heating in F-T Raman Spectroscopy. *The Internet Journal of Vibrational Spectroscopy* 4, 3, 2 (<http://www.ijvs.com>).
- [HIMMELSBACH und AKIN 1998] D. S. HIMMELSBACH, D. E. AKIN (1998). Near-Infrared Fourier-Transform Raman Spectroscopy of Flax (*Linum usitatissimum* L.) Stems. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 46(3), 991-998.
- [HOPFE et al. 1993] J. HOPFE, M. FÜTING, S. WAGNER, E. PIPPEL, J. WOLTERSDORF, A. HÄHNEL (1993). Einsatz von in-situ-Techniken in der Atmosphärischen Rasterelektronenmikroskopie. *Elektronenmikroskopische Direktabbildungen und Analyse von Oberflächen* 26, 31-40.

- [HOPFE und FÜTING 1995] J. HOPFE, M. FÜTING (1995). Fundamentals and Applications of Environmental Scanning Electron Microscopy. In: K. WETZIG, D. SCHULZE (eds.) In situ Scanning Electron Microscopy in Materials Research. Akademie Verlag GmbH, Berlin, 1. Auflage, 219-240.
- [HUG 2002] W. HUG (2002). Raman Optical Activity Spectroscopy. In: J. M. CHALMERS, P. R. GRIFFITHS (eds.) Handbook of Vibrational Spectroscopy. Volume 1. Theory and Instrumentation. John Wiley & Sons, Chichester, 745-758.
- [IMBERTY et al. 1988] A. IMBERTY, H. CHANZY, S. PEREZ, A. BULEON, V. TRAN (1988). The Double-helical Nature of the crystalline Part of A-Starch. *Journal of Molecular Biology* 201(2), 365-378.
- [IMBERTY et al. 1991] A. IMBERTY, A. BULEON, V. TRAN, S. PEREZ (1991). Recent Advances in Knowledge of Starch Structure. *Starch/Stärke* 43(10), 375-384.
- [JÄHN et al. 2002] A. JÄHN, M. W. SCHRÖDER, M. FÜTING, K. SCHENZEL, W. DIEPENBROCK (2002). Characterization of alkali treated flax fibres by means of FT Raman spectroscopy and environmental scanning electron microscopy. *Spectrochimica Acta Part A* 58(10), 2271-2279.
- [JENKINS und DONALD 1997] L. M. JENKINS, A. M. DONALD (1997). Use of the Environmental Scanning Electron Microscope for the Observation of the Swelling Behaviour of Cellulosic Fibres. *Scanning* 19(2), 92-97.
- [JENKINS und DONALD 1999] L. M. JENKINS, A. M. DONALD (1999). Contact Angle Measurements on Fibers in the Environmental Scanning Electron Microscope. *Langmuir* 15(22), 7829-7835.
- [JUMAA et al. 2000] M. JUMAA, F. EL SALEH, I. HASSAN, B. W. MÜLLER, P. KLEINEBUDDE (2000). Influence of cellulose type on the properties of extruded pellets. Part I. Physicochemical characterisation of the cellulose type after homogenisation. *Colloid and Polymer Science* 278(7), 597-607.
- [KAUPPINEN und PARTANEN 2001] J. KAUPPINEN, J. PARTANEN (2001). Fourier Transforms in Spectroscopy. WILEY-VCH Verlag Berlin GmbH, Berlin.
- [KAWADA und MARCHESSAULT 2004] J. KAWADA, R. H. MARCHESSAULT (2004). Solid State NMR and X-ray Studies on Amylose Complexes with Small Organic Molecules. *Starch/Stärke* 56(1), 13-19.
- [KERESZTURY 2002] G. KERESZTURY (2002). Raman Spectroscopy: Theory. In: J. M. CHALMERS, P. R. GRIFFITHS (eds.) Handbook of Vibrational Spectroscopy. Volume 1. Theory and Instrumentation. John Wiley & Sons, Chichester, 71-87.
- [KIM et al. 1989] I. H. KIM, A. I. YEH, B. L. ZHAO, S. S. WANG (1989). Gelatinization Kinetics of Starch by Using Raman Spectroscopy. *Biotechnology Progress* 5(4), 172-174.



- [KIESOW et al. 2003] A. KIESOW, M. FÜTING, A. HEILMANN (2003). Environmental Scanning Microscopy – application in pharmacy and agriculture. Präsentation, 31<sup>st</sup> Microscopy Conference, Interantional Forum for Advanced Microscopy, Dresden. Microscopy and Microanalysis 9, 488-489CD.
- [KITCHING und DONALD 1998] S. KITCHING, A. M. DONALD (1998). Beam damage of polypropylene in the environmental scanning electron microscope: an FTIR study. Journal of Microscopy 190(3), 357-365.
- [KLEINEBUDDE 1997] P. KLEINEBUDDE (1997). The Crystallite-Gel-Model for Microcrystalline Cellulose in Wet-Granulation, Extrusion, and Spheronization. Pharmaceutical Research 14(6), 804-809.
- [KLEINEBUDDE et al. 2000] P. KLEINEBUDDE, M. JUMAA, F. EL SALEH (2000). Influence of Degree of Polymerization on Behavior of Cellulose During Homogenization and Extrusion/Spheronization. AAPS PharmSci 2(2), Artikel 21.
- [KOCH 2003] B. KOCH (2003). Entwicklung einer Methodik zur Untersuchung von Zellkulturen im Atmosphärischen Rasterelektronenmikroskop (ESEM). Diplomarbeit, Fraunhofer Institut für Werkstoffmechanik Halle.
- [KODA et al. 1991] S. KODA, T. HORI, H. NOMURA, F. KAWAIZUMI (1991). Hydration of methyl cellulose. Polymer 32(15), 2806-2810.
- [KOKUBO et al. 1998] H. KOKUBO, S. OBARA, Y. NISHIYAMA (1998). Application of Extremely Low Viscosity Methylcellulose (MC) for Pellet Film Coating. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 46(11), 1803-1806.
- [LANDIN et al. 1993a] M. LANDIN, R. MARTÍNEZ-PACHECO, J. L. GÓMEZ-AMOZA, C. SOUTO, A. CONCEIRO, R. W. ROWE (1993). Effect of country of origin on the properties of microcrystalline cellulose. International Journal of Pharmaceutics 91(2-3), 123-131.
- [LANDIN et al. 1993b] M. LANDIN, R. MARTÍNEZ-PACHECO, J. L. GÓMEZ-AMOZA, C. SOUTO, A. CONCEIRO, R. W. ROWE (1993). Effect of batch variation and of source of pulp on the properties of microcrystalline cellulose. International Journal of Pharmaceutics 91(2-3), 133-141.
- [LANDIN et al. 1993c] M. LANDIN, R. MARTÍNEZ-PACHECO, J. L. GÓMEZ-AMOZA, C. SOUTO, A. CONCEIRO, R. W. ROWE (1993). Influence of microcrystalline cellulose source and batch variation on the tableting behaviour and stability of prednisone formulations. International Journal of Pharmaceutics 91(2-3), 143-149.
- [LANGKILDE und SVANTESSON 1995] F. W. LANGKILDE, A. SVANTESSON (1995). Identification of celluloses with Fourier-Transform (FT) mid-infrared, FT-Raman and near-infrared spectrometry. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 13(4/5), 409-414.
- [LAOHAKUNJIT und NOOMHORM 2004] N. LAOHAKUNJIT, A. NOOMHORM (2004). Effect of Plasticizers on Mechanical and Barrier Properties of Rice Starch Film. Starch/Stärke 56(8), 348-356.

- [LEVIN und LEWIS 1990] I. W. LEVIN, E. N. LEWIS (1990). Fourier transform Raman spectroscopy of biological materials. *Analytical Chemistry* 62(21), 1101A-1111A.
- [LEWEN et al. 2003] K. S. LEWEN, T. PAESCHKE, J. REID, P. MOLITOR, S. J. SCHMIDT (2003). Analysis of the Retrogradation of Low Starch Concentration Gels Using Differential Scanning Calorimetry, Rheology, and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 51(8), 2348-2358.
- [LEWIS und ROSENBLUM 2002] I. R. LEWIS, S. S. ROSENBLUM (2002). General Introduction to Fiber Optics. In: J. M. CHALMERS, P. R. GRIFFITHS (eds.) *Handbook of Vibrational Spectroscopy. Volume 2. Sampling Techniques*. John Wiley & Sons, Chichester, 1533-1540.
- [LINDNER und KLEINEBUDDE 1994] H. LINDNER, P. KLEINEBUDDE (1994). Use of Powdered Cellulose for the Production of Pellets by Extrusion/Spheronization. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 46(1), 2-7.
- [LONG 2002] D. A. LONG (2002). *The Raman Effect: A Unified Treatment of the Theory of Raman Scattering by Molecules*. John Wiley & Sons, Chichester.
- [MADDAMS 1994] W. F. MADDAMS (1994). A review of Fourier-transform Raman spectroscopic studies on polymers. *Spectrochimica Acta Part A* 50(11), 1967-1986.
- [MALAMATARIS et al. 1994] S. MALAMATARIS, T. KARIDAS, P. GOIDAS (1994). Effect of particle size and sorbed moisture on the compression behaviour of some hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) polymers. *International Journal of Pharmaceutics* 103, 205-215.
- [MANNERS 1989] D. J. MANNERS (1989). Recent Developments in Our Understanding of Amylopectin Structure. *Carbohydrate Polymers* 11(2), 87-112.
- [MARK et al. 1966] A. M. MARK, W. B. ROTH, C. L. MEHLTRETTER, C. E. RIST (1966). Oxygen Permeability of Amylo maize Starch Films. *Food Technology* 20(1), 75-77.
- [MCCREERY 2000] R. L. MCCREERY (2000). *Raman Spectroscopy for Chemical Analysis*. John Wiley & Sons, New York.
- [MIKUS et al. 1946] F. F. MIKUS, R. M. HIXON, R. E. RUNDLE (1946). The complexes of Fatty Acids with Amylose. *Journal of the American Chemical Society* 68(6), 1115-1123.
- [MILES et al. 1984] M. J. MILES, V. J. MORRIS, S. G. RING (1984). Some Recent Observations on the Retrogradation of Amylose. *Carbohydrate Polymers* 4(1), 73-77.
- [MILES et al. 1985a] M. J. MILES, V. J. MORRIS, S. G. RING (1985). Gelation of amylose. *Carbohydrate Research* 135(2), 257-269.
- [MILES et al. 1985b] M. J. MILES, V. J. MORRIS, P. D. ORFORD, S. G. RING (1985). The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydrate Research* 135(2), 271-281.
- [MILLAR et al. 1997] G. J. MILLAR, M. L. NELSON, P. J. R. UWINS (1997). A combined environmental scanning electron microscopy and Raman microscopy study of methanol oxidation on silver(I) oxide. *Catalysis Letters* 43, 97-105.

- [MILLAR et al. 1998] G. J. MILLAR, M. L. NELSON, P. J. R. UWINS (1998). In situ observations of structural changes in polycrystalline silver catalysts by environmental scanning electron microscopy. *Journal of Chemical Society, Faraday Trans.* 94(14), 2015-2023.
- [MILLER und DONALD 2003] A. F. MILLER, A. M. DONALD (2003). Imaging of Anisotropic Cellulose Suspensions Using Environmental Scanning Electron Microscopy. *Biomacromolecules* 4, 510-517.
- [MOATES et al. 1997] G. K. MOATES, T. R. NOEL, R. PARKER, S. G. RING (1997). The effect of chain length and solvent interactions on the dissolution of the B-type crystalline polymorph of amylose in water. *Carbohydrate Research* 298(4), 327-333.
- [MOHAMMED et al. 2004] A. R. MOHAMMED, N. WESTON, A. G. A. COOMBES, M. FITZGERALD, Y. PERRIE (2004). Liposome formulation of poorly water soluble drugs: optimization of drug loading loading and ESEM analysis of stability. *International Journal of Pharmaceutics* 285(1-2), 23-34.
- [MORGAN et al. 1992] K. R. MORGAN, R. H. FURNEAUX, R. A. STANLEY (1992). Observation by solid-state  $^{13}\text{C}$  CP MAS NMR spectroscopy of the transformation of wheat starch associated with the making and staling of bread. *Carbohydrate Research* 235, 15-22.
- [MYLLÄRINEN et al. 2002] P. MYLLÄRINEN, A. BULEON, R. LAHTINEN, P. FORSELL (2002). The crystallinity of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers* 48, 41-48.
- [OFNER und KLECH-GELOTTE 2002] C. M. OFNER III, C. M. KLECH-GELOTTE (2002). Gels and Jellies. In: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Marcel Dekker, New York, 1327-1344.
- [ORFORD et al. 1987] P. D. ORFORD, S. G. RING, V. CARROLL, M. J. MILES, V. J. MORRIS (1987). The Effect of Concentration and Botanical Source on the Gelation and Retrogradation of Starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 39(2), 169-177.
- [ORTEGA-OJEDA und ELIASSON 2001] F. E. ORTEGA-OJEDA, A. C. ELIASSON (2001). Gelatinisation and Retrogradation of some Starch Mixtures. *Starch/Stärke* 53(10), 520-529.
- [OTTO und GREVE 1998] C. OTTO, J. GREVE (1998). Progress in Instrumentation for Raman micro-spectroscopy and Raman imaging for cellular Biophysics. *The Internet Journal of Vibrational Spectroscopy* 2, 3, 4 (<http://www.ijvs.com>).
- [PALVIAINEN et al. 2001] P. PALVIAINEN, J. HEINÄMÄKI, P. MYLLÄRINEN, R. LAHTINEN, J. YLIRUUSI, P. FORSELL (2001). Corn Starches as Film Formers in Aqueous-Based Film Coating. *Pharmaceutical Development and Technology* 6(3), 353-361.
- [PAN et al. 2002] M. W. PAN, R. E. BRENNER, L. M. SMITH (2002). Continuous Lasers for Raman Spectrometry. In: J. M. CHALMERS, P. R. GRIFFITHS (eds.) *Handbook of Vibrational Spectroscopy*. Volume 1. Theory and Instrumentation. John Wiley & Sons, Chichester, 490-506.

- [PAREDES-LÓPEZ et al. 1994] O. PAREDES-LÓPEZ, L. A. BELLO-PÉREZ, M. G. LÓPEZ (1994). Amylopectin: Structural, gelatinisation and retrogradation studies. *Food Chemistry* 50(4), 411-417.
- [PETTY 1991] C. J. PETTY (1991). Self-absorption in near-infrared Fourier transform Raman spectrometry. *Vibrational Spectroscopy* 2(4), 263-268.
- [PFANNEMÜLLER et al. 1971] B. PFANNEMÜLLER, H. MAYERHÖFER, R. C. SCHULZ (1971). Conformation of Amylose in Aqueous Solution: Optical Rotatory Dispersion and Circular Dichroism of Amylose-Iodine Complexes and Dependence on Chain Length of Retrogradation of Amylose. *Biopolymers* 10(2), 243-261.
- [PHILLIPS et al. 1998] D. E. PHILLIPS, D. H. PAN, H. LIU, H. CORKE (1998). Raman spectroscopic determination of the percent of acetylation in modified wheat starch. *Analytical Letters* 31(12), 2105-2114.
- [RAMAN und KRISHNAN 1928] C. V. RAMAN, K. S. KRISHNAN (1928). A New Type of Secondary Radiation. *Nature* 121, 501-502.
- [REIN 1993] H. REIN (1993). Mikroverkapseln mit Stärke. Dissertation, Philipps-Universität Marburg.
- [REIN und STEFFENS 1997] H. REIN, K. J. STEFFENS (1993). Surface Modification of Water-insoluble Drug Particle with Starch. *Starch/Stärke* 49(9), 364-371.
- [RING et al. 1987] S. G. RING, P. COLONNA, K. J. GANSON, M. T. KALICHEVSKY, M. J. MILES, V. J. MORRIS, P. D. ORFORD (1987). The gelation and crystallisation of amylopectin. *Carbohydrate Research* 162(2), 277-293.
- [ROBIN et al. 1974] J. P. ROBIN, C. MERCIER, R. CHARBONNIERE, A. GUILBOT (1974). Lintnerized Starches. Gel Filtration and Enzymatic Studies of Insoluble Residues from Prolonged Acid Treatment of Potato Starch. ... 51, 389-406.
- [ROWE et al. 1994] R. C. ROWE, A. G. MCKILLOP, D. BRAY (1994). The effect of batch and source variation on the crystallinity of microcrystalline cellulose. *International Journal of Pharmaceutics* 101(1-2), 169-172.
- [ROYALL et al. 2001] C. P. ROYALL, B. L. THIEL, A. M. DONALD (2001). Radiation damage of water in environmental scanning electron microscopy. *Journal of Microscopy* 204(3), 185-195.
- [RUNDLE und FRENCH 1943] R. E. RUNDLE, D. FRENCH (1943). The Configuration of Starch in the Starch-Iodine Complex. III. X-Ray Diffraction Studies of the Starch-Iodine complex. *Journal of the American Chemical Society* 65(9), 1707-1710.
- [SARKO und WU 1978] A. SARKO, H. C. H. WU (1978). The Crystal Structure of A-, B- and C-Polymorphs of Amylose and Starch. *Starch/Stärke* 30(3), 73-78.
- [SCHENZEL und FISCHER 2001] K. SCHENZEL, S. FISCHER (2001). NIR FT Raman spectroscopy – a rapid analytical tool for detecting the transformation of cellulose polymorphs. *Cellulose* 8(1), 49-57.

- [SCHERER et al. 1985] J. R. SCHERER, G. F. BAILEY, S. KINT, R. YOUNG, D. P. MALLADI, B. BOLTON (1985). Water in Polymer Membranes. 4. Raman Scattering from Cellulose Acetate Films. *The Journal of Physical Chemistry* 89(2), 312-319.
- [SCHIERBAUM 1960a] F. SCHIERBAUM (1960). Hydration of starch. I. History and present state of knowledge of the sorption and desorption of water by starch. *Starch/Stärke* 12(8), 237-243.
- [SCHIERBAUM 1960b] F. SCHIERBAUM (1960). The hydration of starch. II. Tensiometric study of sorption and desorption of water by starch. *Starch/Stärke* 12(9), 257-265.
- [SCHIERBAUM et al. 1962] F. SCHIERBAUM, K. TÄUFEL, M. ULMANN (1962). Hydration of starch. III. Dehydration of starch by infrared irradiation. *Starch/Stärke* 14(5), 161-167.
- [SCHIERBAUM und TÄUFEL 1962a] F. SCHIERBAUM, K. TÄUFEL (1962). The hydration of starch. IV. Dependence of the heat of sorption of starch on its [extent of] hydration. *Starch/Stärke* 14(7), 233-238.
- [SCHIERBAUM und TÄUFEL 1962b] F. SCHIERBAUM, K. TÄUFEL (1962). The hydration of starch. V. Influence of drying on the cold-water solubility of starch. *Starch/Stärke* 14(8), 274-276.
- [SCHIERBAUM und TÄUFEL 1963a] F. SCHIERBAUM, K. TÄUFEL (1963). The hydration of starch. VIII. The swelling of starch of different water content in pyridine-water mixtures. *Starch/Stärke* 15(3), 93-98.
- [SCHIERBAUM und TÄUFEL 1963b] F. SCHIERBAUM, K. TÄUFEL (1963). The hydration of starch. IX. The binding of water and its effect on the properties of starch granules. *Starch/Stärke* 15(5), 161-166.
- [SCHITTKOWSKI und BRÜGGEMANN 2002] T. SCHITTKOWSKI, D. BRÜGGEMANN (2002). Raman-Spektroskopie und ihr Einsatz zur orts aufgelösten Bestimmung von Gaskonzentrationen in rußenden Flammen. *Chemie Ingenieur Technik* 74(7), 1012-1016.
- [SCHMIDT und WEYHING 2004] P. C. SCHMIDT, K. WEYHING (2004). Arzneiformen unter dem Rasterelektronenmikroskop. *Deutsche Apotheker Zeitung* 144(18), 2082-2086.
- [SCHOCH 1942] T. J. SCHOCH (1942). Fraction of Starch by Selective Precipitation with Butanol. *Journal of the American Chemical Society* 64(12), 2957-2961.
- [SCHOCH und WILLIAMS 1944] T. J. SCHOCH, C. B. WILLIAMS (1944). Adsorption of fatty acid by the linear component of corn starch. *Journal of the American Chemical Society* 66(7), 1232-1233.
- [SCHRADER 1989] B. SCHRADER (1989). *Raman/Infrared Atlas of Organic Compounds*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 2. Auflage.
- [SCHRADER et al. 1989] B. SCHRADER, A. SIMON, J. SAWATZKI (1989). FT-Raman Spectroscopy. *Bruker FT-IR Application note* 29.
- [SCHRADER 1995] B. SCHRADER (1995). *Infrared and Raman Spectroscopy: Methods and Applications*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.

- [SCHRADER 1997a] B. SCHRADER (1997). Possibilities of Raman spectroscopy in the near-IR range. Part 1. *Chemie in unserer Zeit* 31(5), 229-234.
- [SCHRADER 1997b] B. SCHRADER (1997). Opportunities of Raman spectroscopy in the near-IR range. Part 2. Application examples for vibrational spectroscopy from chemistry to archeology and medicine. *Chemie in unserer Zeit* 31(6), 270-279.
- [SCHRADER et al. 1999] B. SCHRADER, H. H. KLUMP, K. SCHENZEL, H. SCHULZ (1999). Non-destructive NIR FT Raman analysis of plants. *Journal of Molecular Structure* 509(1-3), 201-212.
- [SCHUSTER et al. 2000] K. C. SCHUSTER, H. EHMOSE, J. R. GAPES, B. LENDL (2000). On-line FT-Raman spectroscopic monitoring of starch gelatinisation and enzyme catalysed starch hydrolysis. *Vibrational Spectroscopy* 22(1-2), 181-190.
- [SEBTI et al. 2003] I. SEBTI, J. DELVES-BROUGHTON, V. COMA (2003). Physicochemical Properties and Bioactivity of Nisin-Containing Cross-Linked Hydroxypropylmethylcellulose Films. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51, 6468-6474.
- [SEKKAL et al. 1995] M. SEKKAL, V. DINCQ, P. LEGRAND, J. P. HUVENNE (1995). Investigation of the glycosidic linkages in several oligosaccharides using FT-IR and FT Raman spectroscopies. *Journal of Molecular Structure* 349, 349-352.
- [SHAMAI et al. 2004] K. SHAMAI, E. SHIMONI, H. BIANCO-PELED (2004). Small Angle X-ray Scattering of Resistant Starch Type III. *Biomacromolecules* 5(1), 219-223.
- [SHANNEN und GARWOOD 1984] J. C. SHANNEN, D. L. GARWOOD (1984). Genetics and physiology of starch development. In: R. L. WHISTLER, J. N. BEMILLER, E. F. PASCHALL (eds.) *Starch: Chemistry and Technology*. Academic Press, London, 2. Auflage, 25-86.
- [SHLIEOUT et al. 2002] G. SHLIEOUT, K. ARNOLD, G. MÜLLER (2002). Powder and Mechanical Properties of Microcrystalline Cellulose With Different Degrees of Polymerization. *AAPS PharmSciTech* 3(2), Artikel 11 (<http://www.aapspharmscitech.org>).
- [STELMASHENKO et al. 2001] N. A. STELMASHENKO, J. P. CRAVEN, A. M. DONALD, E. M. TARENTJEV, B. L. THIEL (2001). Topographic contrast of partially wetting water droplets in environmental scanning electron microscopy. *Journal of Microscopy* 204(2), 172-183.
- [STERLING 1956] C. STERLING (1956). Relationship of age with strain retrogradation in a starch gel. *Food Research* 21, 680-688.
- [STERLING 1978] C. STERLING (1978). Textural qualities and molecular structure of starch products. *Journal of Texture Studies* 9(3), 225-255.
- [STOKES et al. 2002] D. J. STOKES, S. M. REA, a. E. PORTER, S. M. BEST, W. BONFIELD (2002). Characterisation of Biomedical Materials, Cells & Interfaces using Environmental SEM (ESEM). *Materials Research Society Symposium Proceedings* 711, 113-118.

- [STOKES et al. 2003] D. J. STOKES, S. M. REA, S. M. BEST, W. BONFIELD (2003). Electron Microscopy of Mammalian Cells in the Absence of Fixing, Freezing, Dehydration, or Specimen Coating. *Scanning* 25(4), 181-184.
- [SUZUKI und NAKAGAMI 1999] T. SUZUKI, H. NAKAGAMI (1999). Effect of crystallinity of microcrystalline cellulose on the compactability and dissolution of tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 47(3), 225-230.
- [SUZUKI et al. 2001] T. SUZUKI, H. KIKUCHI, S. YAMAMURA, K. TERADA, K. YAMAMOTO (2001). The change in characteristics of microcrystalline cellulose during wet granulation using high-shear mixer. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 53(5), 609-616.
- [TAI und TANG 2001] S. S. W. TAI, X. M. TANG (2001). Manipulating Biological Samples for Environmental Scanning Electron Microscopy Observation. *Scanning* 23(4), 267-272.
- [TAN 2003] I. TAN, P. A. SOPADE, P. J. HALLEY (2003). Investigating the phase transformations in starch during gelatinisation. Vortrag, 2<sup>nd</sup> AINSE Symposium on Small-Angle Scattering and Reflectometry, Lucas Heights ([http://www.ansto.gov.au/ansto/bragg/symposium/talks/wed\\_sopade.pdf](http://www.ansto.gov.au/ansto/bragg/symposium/talks/wed_sopade.pdf)).
- [TAYLOR und ZOGRAFI 1998] L. S. TAYLOR, G. ZOGRAFI (1998). The Qualitative Analysis of Crystallinity Using FT-Raman Spectroscopy. *Pharmaceutical Research* 15(5), 755-761.
- [THOMAS und HAALAND 1990] E. V. THOMAS, D. M. HAALAND (1990). Comparison of Multivariate Calibration Methods for Quantitative Spectral Analysis. *Analytical Chemistry* 62(10), 1091-1099.
- [THYGESEN et al. 2003] L. G. THYGESEN, A. BLENNOW, S. B. ENGELSEN (2003). The Effect of Amylose and Stach Phosphate on Starch Gel Retrogradation Studied by Low-field <sup>1</sup>H NMR Relaxometry. *Starch/Stärke* 55(6), 241-249.
- [TIAN et al. 2005] H. Y. TIAN, C. DENG, H. LIN, J. SUN, M. DENG, X. CHEN, X. JING (2005). Biodegradable cationic PEG-PEI-PBLG hyperbranched block copolymer: synthesis and micelle characterization. *Biomaterials* 26, 4209-4217.
- [TREADO und NELSON 2002] P. J. TREADO, P. NELSON (2002). Raman Imaging. In: J. M. CHALMERS, P. R. GRIFFITHS (eds.) *Handbook of Vibrational Spectroscopy. Volume 2. Sampling Techniques*. John Wiley & Sons, Chichester, 1429-1459.
- [VAN SOEST et al. 1994] J. J. G. VAN SOEST, D. DE WIT, H. TOURNOIS, J. F. G. VLIAGENTHART (1994). Retrogradation of Potato Starch as Studied by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Starch/Stärke* 46(12), 453-457.
- [VANKEIRSBILCK et al. 2002] T. VANKEIRSBILCK, A. VERKAUTEREN, W. BAEYENS, G. VAN DER WEKEN, F. VERPOORT, G. VERGOTE, J. P. REMON (2002). Application of Raman spectroscopy in pharmaceutical analysis. *Trends in Analytical Chemistry* 21(12), 869-877.
- [VASKO et al. 1971] P. D. VASKO, J. BLACKWELL, J. L. KOENIG (1971). Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates. I. Identification of O-H and C-H related vibrational modes

- for D-glucose, maltose, cellobiose, and dextran by deuterium-substitution methods. *Carbohydrate Research* 19(3), 297-310.
- [VASKO et al. 1972] P. D. VASKO, J. BLACKWELL, J. L. KOENIG (1972). Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates. II. Normal coordinate analysis of  $\alpha$ -D-glucose. *Carbohydrate Research* 23(3), 407-416.
- [WEGENER et al. 1996] M. WEGENER, R. NEUBERT, W. RETTIG, S. WARTEWIG (1996). Structure of stratum corneum lipids characterized by FT-Raman spectroscopy and DSC. I. ceramides. *International Journal of Pharmaceutics* 128(1-2), 203-213.
- [WHISTLER und HILBERT 1945] R. L. WHISTLER, G. E. HILBERT (1945). Separation of Amylose and Amylopektin by Certain Nitroparaffins. *Journal of the American Chemical Society* 67(7), 1161-1165.
- [WHISTLER und DANIEL 1984] R. L. WHISTLER, J. R. DANIEL (1984). Molecular structure of starch. In: R. L. WHISTLER, J. N. BEMILLER, E. F. PASCHALL (eds.) *Starch: Chemistry and Technology*. Academic Press, London, 2. Auflage, 153-182.
- [WILEY und ATALLA 1987] J. H. WILEY, R. H. ATALLA (1987). Band assignments in the Raman spectra of celluloses. *Carbohydrate Research* 160, 113-129.
- [WILHELM et al. 2002] E. WILHELM, T. ABERLE, W. BURCHARD, R. LANDERS (2002). Peculiarities of Aqueous Amaranth Starch Suspensions. *Biomacromolecules* 3(1), 17-26.
- [WILLIAMS et al. 1992] A. C. WILLIAMS, H. G. M. EDWARDS, B. W. BARRY (1992). Fourier transform Raman spectroscopy. A novel application for examining human stratum corneum. *International Journal of Pharmaceutics* 81(2-3), R11-R14.
- [WILSON und BELTON 1988] R. H. WILSON, P. S. BELTON (1988). A Fourier-transform infrared study of wheat starch gels. *Carbohydrate Research* 180(2), 339-344.
- [WILSON et al. 1991] R. H. WILSON, B. J. GOODFELLOW, P. S. BELTON, B. G. OSBORNE, G. OLIVER, P. L. RUSSELL (1991). Comparison of Fourier Transform Mid Infrared Spectroscopy and Near Infrared Reflectance Spectroscopy with Differential Calorimetry for the Study of the Staling of Bread. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 54(3), 471-483.
- [WINTER und KWAK 1987] W. T. WINTER, Y. T. KWAK (1987). Rapid-scanning Raman spectroscopy: a novel approach to starch retrogradation. *Food Hydrocolloids* 1(5/6), 461-463.
- [YOUNG 1984] A. H. YOUNG (1984). Fractionation of starch. In: R. L. WHISTLER, J. N. BEMILLER, E. F. PASCHALL (eds.) *Starch: Chemistry and Technology*. Academic Press, London, 2. Auflage, 249-283.
- [ZBYTOVSKÁ et al. 2004] J. ZBYTOVSKÁ, S. RAUDENKOLB, S. WARTEWIG, W. HÜBNER, W. RETTIG, P. PISSIS, A. HRABÁLEK, P. DOLEZAL, R. H. H. NEUBERT (2004). Phase behaviour of transkarbam 12. *Chemistry and Physics of Lipids* 129, 97-109.



- 
- [ZOBEL 1988a] H. F. ZOBEL (1988). Starch Crystal Transformations and Their Industrial Importance. *Starch/Stärke* 40(1), 1-7.
- [ZOBEL 1988b] H. F. ZOBEL (1988). Molecules to Granules: A Comprehensive Starch Review. *Starch/Stärke* 40(2), 44-50.
- [ZOGRAFI und KONTNY 1986] G. ZOGRAFI, M. J. KONTNY (1986). The Interactions of Water with Cellulose- and Starch-Derived Pharmaceutical Excipients. *Pharmaceutical Research* 3(4), 187-194.

## 8 ANLAGE

### (VERÖFFENTLICHTE ORIGINALARBEITEN)

- 8.1 P. M. FECHNER, S. WARTEWIG, M. FÜTING, A. HEILMANN, R. H. H. NEUBERT, P. KLEINEBUDDE (2003). Properties of microcrystalline cellulose and powder cellulose after extrusion/spheronization as studied by Fourier transform Raman spectroscopy and environmental scanning electron microscopy. *AAPS PharmSci* 5(4), Artikel 31.
- 8.2 P. M. FECHNER, S. WARTEWIG, A. KIESOW, A. HEILMANN, P. KLEINEBUDDE, R. H. H. NEUBERT (2005). Interaction of water with different cellulose ethers: a Raman spectroscopy and environmental scanning electron microscopy study. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 57(6), 1-10.
- 8.3 P. M. FECHNER, S. WARTEWIG, P. KLEINEBUDDE, R. H. H. NEUBERT (2005). Studies of the retrogradation process for various starch gels using Raman spectroscopy. *Carbohydrate Research* 340, 2563-2568.
- 8.4 P. M. FECHNER, S. WARTEWIG, A. KIESOW, A. HEILMANN, P. KLEINEBUDDE, R. H. H. NEUBERT (2005). Influence of Water on the Molecular and Morphological Structure of Various Starches and Starch Derivatives. *Starch/Stärke* 57, 605-615.

Weitere Veröffentlichungen:

A. HEILMANN, A. KIESOW, M. FÜTING, P. KLEINEBUDDE, P. M. FECHNER, R. H. H. NEUBERT (2006). Charakterisierung pharmazeutischer Hilfsstoffe mittels atmosphärischer Rasterelektronenmikroskopie. *PZ-Prisma* (im Druck).

## Ich danke ...

... Prof. Dr. Dr. R. Neubert für die Vergabe dieses interessanten Forschungsthemas, seinem Interesse am Fortgang der Arbeit und die großen Freiheiten bei der Bearbeitung des Themas.

... Prof. Dr. P. Kleinebudde für die Ideen bei der Erstellung der Arbeit, die Beantwortung meiner zahlreichen Fragen, die Hilfestellung und die stete, hilfreiche und anregende Diskussion.

... Prof. Dr. S. Wartewig für die geduldige Bearbeitung und Korrektur der Veröffentlichungen und für die Beantwortung meiner Fragen.

... den Mitarbeitern des Fraunhofer Instituts für Werkstoffmechanik Halle, insbesondere Dr. A. Kiesow für die Ideen, Vorschläge und die stete Diskussionsbereitschaft, Dr. habil. A. Heilmann und Dr. M. Fütting für die Unterstützung auf dem Gebiet der Elektronenmikroskopie, Frau U. Heunemann für die Durchführung der zahlreichen elektronenmikroskopischen Untersuchungen.

... Frau H. Rudolf für die Hilfestellung bei den „unendlich“ vielen Raman-Messungen.

... Markus Thommes für die Mithilfe bei den Extrusionsversuchen, der Durchführung der Sorptions- und Desorptionsexperimente und das offene Ohr für meine Anliegen.

... Jarmila Zbytovska für ihre Geduld mit meinen unzähligen Fragen und die vielen schönen Nachmittage.

... Andreas Hünerbein, Sandra Heuschkel, Christian Schmelzer, Andrea Heinz, Tlalla Islas und allen anderen Kolleginnen und Kollegen des Instituts für pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg für die stete Diskussionsbereitschaft sowie Hilfestellungen und das angenehme Arbeitsklima.

... der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Finanzierung der Arbeit.

... den Firmen FMC BioPolymer, Pharmatrans Sanaq AG, Degussa AG, Shin-Etsu, Colorcon, Hercules, Roquette Freres und Cerestar für die großzügige Überlassung der Materialien.

... meinen Eltern und meiner Schwester für den Zuspruch und die Unterstützung, die ich während des Studiums und der Promotion erfahren habe.

**LEBENS LAUF**

Name Petra Monika Fechner  
Geburtsdatum 17.12.1974  
Geburtsort Jena

## Schulischer Werdegang

1981-1983 Grundschule Gera  
1983-1990 Polytechnische Oberschule Hermsdorf  
1990-1993 Gymnasium Hermsdorf  
06/1993 Abitur

## Beruflicher Werdegang

1993-1996 Ausbildung zur Pharmazeutisch-technischen Assistentin an der Medizinischen Fachschule Jena  
02-09/1996 Apotheke im Globus Jena/Isserstedt  
1996-2000 Studium der Pharmazie an der Philipps-Universität Marburg/Lahn (1998: erster Abschnitt der pharmazeutischen Prüfung, 2000: zweiter Abschnitt der pharmazeutischen Prüfung)  
11/2000-04/2001 Diplomarbeit am Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie an der Philipps-Universität Marburg/Lahn zum Thema: PEG-PEI-Blockcopolymere als nicht-virale Vektoren für die Gentherapie  
05-10/2001 Praktikum in der Mühlthal-Apotheke Eisenberg  
11/2001 dritter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung und Approbation  
12/2001-01/2005 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg;  
Beginn der Dissertation unter der Leitung von Prof. Dr. R. Neubert  
seit 04/2005 angestellte Apothekerin

Halle, 08.12.2005

Hiermit erkläre ich gemäß §5 Absatz 2b der Promotionsordnung des mathematisch-naturwissenschaftlichen Bereichs der Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, dass ich die vorgelegte Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Weiterhin habe ich keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht.

Die vorliegende Arbeit wurde noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Halle, 08.12.2005

Petra Fechner