Utjecaj parametara sušenja raspršivanjem na svojstva alginatnih mikročestica

Nižić, Laura; Keser, Sabina; Duvnjak Romić, Margareta; Hafner, Anita

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2018, 74, 619 - 632**

Journal article, Published version
Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:866890

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-27**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

Utjecaj parametara sušenja raspršivanjem na svojstva alginatnih mikročestica

LAURA NIŽIĆ[1], SABINA KESER[1], MARIETA DUVNJAK ROMIĆ[2], ANITA HAFNER[1]

[1]Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet,
Zavod za farmaceutsku tehnologiju, A. Kovačića 1, 10 000 Zagreb
[2]Istraživanje i razvoj, PLIVA Hrvatska d.o.o.,
Prilaz baruna Filipovića 25, 10 000 Zagreb

Influence of spray-drying parameters on the properties of alginate microparticles

A b s t r a c t – Spray-drying is a technological process that is widely used in the development of pharmaceuticals. By optimizing the process parameters, it is possible to obtain the powdered product of controlled particle properties. The procedure is largely applicable in the development of innovative drug delivery systems of the desired release profile of the drug.

The aim of this work was to prepare alginate microparticles by spray drying method and to investigate the influence of the feed rate and drying air flow rate (through aspirator setting) on the process yield, particle size and residual moisture content of the product. A full factorial experimental design with three levels of process parameters was used (sample flow rate of 2.12, 3.92 and 5.64 g/min, and aspirator setting of 25, 50 and 75 % of full capacity). The sodium alginate solution (0.5 %, w/V) was spray-dried at an inlet temperature of 140.0 °C and a compressed air flow of 700 Nl/h using a bifluid nozzle device. Particle size was determined by microscopic image analysis. Moisture content in dried products was determined by thermogravimetric analysis. The yield of the spray-drying process ranged from 40.2 to 59.6 %. Significant influence of the investigated parameters on the process yield was noted: increasing sample flow rate resulted in reduced process yield, while the increase of drying air flow rate caused a greater yield of the process. The mean diameter of alginate microparticles ranged from 2.80±0.04 μm to 3.14±0.17 μm.

SEM analysis revealed the adhesion of smaller particles to larger ones and the agglomeration of the particles. The moisture content of the alginate microparticles ranged from 9.75 to 11.51 %. The relationship between the microparticle moisture content and the studied parameters was not observed. Relatively high moisture content in the spray-dried products was explained by sorption of the atmospheric moisture on alginate microparticles after the spray-drying process. This study can serve as a starting point in the development of alginate based drug delivery systems prepared by spray-drying.

([1]University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Department of Pharmaceutical Technology, A. Kovačića 1, 10 000 Zagreb, Croatia
[2]Generic R&D, Pliva Ltd., 10 000 Zagreb, Croatia)

UVOD

Sušenje raspršivanjem danas je nezaobilazan tehnološki proces u istraživanju i razvoju lijekova. Koristi se u raznim fazama proizvodnje lijekova, a najviše u razvoju tehnoloških platformi za proizvodnju lijekova s unaprijeđenom vrijednošću. Princip procesa je izolacija čvrstih čestica uklanjanjem disperzijskog sredstva koje isparava nakon kontakta s medijem za sušenje (1). Postupak se sastoji od nekoliko faza i kombinira više parametara. Peristaltičkom pumpom uzorak (otopina, emulzija ili suspenzija) se dovodi do sapnice na kojoj se raspršuje pri ulasku u komoru za sušenje. Jedna od najbitnijih prednosti takvog postupka je prikladnost za sušenje termolabilnih tvari zbog brzog isparavanja otapala, što hladi same čestice (2). Tvari se suše raspršivanjem radi dobivanja prašaka za direktno komprimiranje, poboljšanja topljivosti i bioraspoloživosti, izrade terapijskih sustava s produljenim ili odgođenim oslobađanjem lijeka. Postupak može biti prikladan i za biološke molekule, primjerice proteine, te mikroorganizme, čije oblikovanje predstavlja poseban izazov u farmaciji. Sušenje raspršivanjem veoma je zastupljeno u razvoju mikročestica kao terapijskih sustava za nazalnu i pulmonalnu primjenu (3). Razlog tome je činjenica da se variranjem procesnih i formulacijskih parametara mogu prilagoditi svojstva čestica mjestu primjene i postići željeni profil oslobađanja lijeka. Zbog toga je bitno znati kakva je međuovisnost parametara priprave i svojstava produkta kako bi se sam postupak priprave mogao optimirati (4).

Ostatna vlaga, odnosno voda zaostala u produktu nakon sušenja važno je svojstvo produkta sušenja raspršivanjem. Osim što utječe na iskorištenje procesa (5), vlaga je često uzrok nestabilnosti formulacije/lijeka. Vlaga može uzrokovati

razgradnju djelatnih tvari, pogotovo onih podložnih hidrolizi, zatim može djelovati kao plastifikator te sniziti temperaturu staklišta (Tg) amorfne tvari i tako povećati prianjanje produkta za dijelove uređaja. Nadalje, utječe i na brzinu otapanja, svojstva tečenja i kompresibilnost praška (6). Istraživanje koje su proveli Kanojiaa i suradnici (2016.) navodi da su faktori koji najviše utječu na sadržaj vlage tlak na sapnici i ulazna temperatura. Viša temperatura ili tlak na sapnici rezultirali su smanjenim udjelom ostatne vlage, dok je povećanje brzine dotoka uzorka uzrokovalo povećanje istog (7).

U ovom radu pripravljene su alginatne mikročestice na način da je otopina natrijevog alginata sušena raspršivanjem pri uvjetima konstantne ulazne temperature i tlaka na sapnici korištenjem uređaja s bifluidom sapnicom, sa zrakom kao medijem za sušenje. U farmaceutskoj tehnologiji alginat se koristi za izradu raznih novih terapijskih sustava s ciljem lakšeg oblikovanja i postizanja veće bioraspoloživosti uklopljenog lijeka (8). Cilj rada bio je ispitati utjecaj dva parametra, brzine dotoka uzorka i protoka medija za sušenje (vrućeg zraka) kroz sustav na iskorištenje procesa, sadržaj ostatne vlage i veličinu čestica u produktu dobivenom sušenjem raspršivanjem. U tu svrhu korišten je puni faktorijalni dizajn. Svaki od čimbenika (brzina dotoka uzorka i protoka zraka kroz sustav) promatran je na tri razine, čime je generirana matrica s devet (3^2) eksperimenata. Dobiveni produkt okarakteriziran je određivanjem sadržaja vlage, veličine čestica i promatranjem njihove morfologije. Veličina čestica određena je mikroskopskom analizom slike, dok je za određivanje sadržaja vlage u gotovom produktu korištena metoda termogravimetrijske analize. Dobiveni rezultati analizirani su korištenjem programa za statističku obradu podataka JMP.

Materijali i metode

Materijali

U izradi eksperimentalnog dijela rada korišten je natrijev alginat Protanal CR 8223 čija 1,25 %-tna vodena otopina (m/V) ima viskoznost od 600 do 900 mPa.s (FMC BioPolymer, Philadelphia, SAD).

Dizajn eksperimenta

Primijenjen je puni faktorijalni dizajn pri kojem su varirana dva procesna parametra (brzina dotoka uzorka, odnosno brzina rada pumpe i brzina protoka zraka kroz sustav – postavka aspiratora) na tri razine, dok su ulazna temperatura i tlak na sapnici bili konstantni. Odabrane postavke ispitivanih parametara određene su eksperimentalno i prikazane u tablici 1.

Promatran je utjecaj procesnih parametara na krajnji rezultat postupka: iskorištenje, zatim veličinu čestica te sadržaj vlage u suhom produktu – alginatnim mikročesticama.

Tablica 1. Prikaz variranih parametara sušenja raspršivanjem

BRZINA DOTOKA UZORKA (g/min) \ KAPACITET RADA ASPIRATORA	25 %	50 %	75 %
2,12	Uzorak 1	Uzorak 2	Uzorak 3
3,92	Uzorak 4	Uzorak 5	Uzorak 6
5,64	Uzorak 7	Uzorak 8	Uzorak 9

Statistička analiza dobivenih podataka napravljena je korištenjem softwarea JMP 13 (SAS Institute, Cary, North Carolina, SAD, *trial* verzija). Dobivene su jednadžbe ovisnosti iskorištenja, veličine čestica i sadržaja vlage o variranim procesnim parametrima. Kao mjera podudaranja statističkog modela s dobivenim eksperimentalnim rezultatima uzet je koeficijent determinacije, R^2.

Priprava alginatnih mikročestica

Pripravljena je 0,5 % (*m*/*V*) otopina natrijevog alginata u pročišćenoj vodi. Sušenje raspršivanjem provedeno je pomoću uređaja za sušenje raspršivanjem Büchi 190 Mini Spray Dryer (Flawil, Švicarska). Promjer sapnice korištenog uređaja je 0,5 mm. Pripravljena otopina natrijevog alginata sušena je raspršivanjem pri konstantnoj ulaznoj temperaturi od 140 °C i konstantnom protoku atomizirajućeg (komprimiranog) zraka koji je iznosio 700 Nl/h. Variranе su postavke rada peristaltičke pumpe (brzina dotoka raspršivanog uzorka) i aspiratora (brzina protoka medija za sušenje). Sušenje je rađeno pri brzini protoka uzorka od 2,12, 3,92 i 5,64 g/min te kapacitetu rada aspiratora od 25 %, 50 % i 75 % (tablica 1.). Svaki od parametara promatran je na tri razine, pa je provedeno 3^2 odnosno 9 eksperimenata, u duplikatu.

Određivanje iskorištenja procesa

Iskorištenje procesa izračunato je kao omjer mase suhih alginatnih mikročestica, odnosno produkta, i početne mase natrijevog alginata otopljenog u pročišćenoj vodi, a izraženo je u obliku masenog postotka.

Određivanje veličine alginatnih mikročestica

Veličina čestica određena je mikroskopskom analizom slike korištenjem Olympus BH-2 mikroskopa spregnutog s kamerom (CCD kamera ICD-42-E, Ikegami Tsushinki Co., Japan) te računalnom obradom slike pomoću programa Optomax V (Cambridge, Velika Britanija). Prije analize, uzorak dobivenih čestica nanesen je u tankom sloju na predmetno stakalce. Najmanje 1500 čestica izmjereno je za svaki uzorak.

Određivanje morfologije alginatnih mikročestica

Morfologija mikročestica ispitana je metodom pretražne elektronske mikroskopije (engl. *Scanning electron microscopy*, SEM) pomoću uređaja Tescan Vega 3 SEM (Brno, Češka). Uzorak je nanesen na vodljivu vrpcu i fiksiran na metalni nosač te stavljen u komoru naparivača (eng. *sputter coater*) Quorum SC7620 u atmosferu inertnog plina argona. Uzorak je promatran nakon oblaganja tankim slojem platine i rodija pri naponu od 800–1200 V.

Određivanje sadržaja vlage u alginatnim mikročesticama

Sadržaj vlage u gotovim uzorcima određen je termogravimetrijskom analizom koristeći uređaj TGA Q5000 (TA Instruments, New Castle, DE, SAD). Oko 10 mg uzorka naneseno je na platinastu pliticu grijanu od 25 do 300 °C brzinom od 10 °C/min pod strujom dušika od 35 mL/min

REZULTATI I RASPRAVA

Dizajn eksperimenta

Da bi se odredile razine procesnih parametara uključenih u eksperimentalni dizajn, kao i nepromjenjive vrijednosti preostalih procesnih parametara (ulazne temperature medija za sušenje i protoka komprimiranog zraka kroz sapnicu), rađena su preliminarna sušenja. Cilj je bio utvrditi minimalne i maksimalne vrijednosti parametara pri kojima se dobiva produkt, a da proces nije prespor ili neisplativ. Prva sušenja provedena su pri kapacitetu rada aspiratora od 50 %, ulaznoj temperaturi od 120,0, 148,0 i 165,0 °C, protoku komprimiranog zraka od 700 Nl/h, i dotoku uzorka od 3,92 g/min. Navedenim preliminarnim eksperimentima, za daljnje korake određivanja razina parametara, odabrana je ulazna temperatura od 120,0 °C.

U idućem koraku ispitivan je utjecaj brzine dotoka uzorka do sapnice, pri kapacitetu rada aspiratora od 50 %, protoku komprimiranog zraka od 700 Nl/h i ulaznoj temperaturi od 120,0 °C, na izlaznu temperaturu medija za sušenje. Kao donja granica izlazne temperature postavljena je temperatura od 60,0 °C.

Brzina dotoka uzorka i odgovarajuća izlazna temperatura prikazane su u tablici 2.

Tablica 2. Brzina dotoka uzorka i odgovarajuća izlazna temperatura u procesu sušenja raspršivanjem alginatne otopine (0,5 %, *m/V*), pri kapacitetu rada aspiratora od 50 %, protoku komprimiranog zraka od 700 Nl/h i ulaznoj temperaturi od 120,0 °C

Brzina dotoka uzorka (g/min)	Izlazna temperatura (°C)
2,12	81,0
3,92	71,0
5,64	61,0

Uočeno je smanjenje izlazne temperature zraka s porastom brzine dotoka uzorka, što je u skladu s očekivanjima. Naime, pri većoj brzini dotoka uzorka, veći volumen otapala isparava s površine raspršenih kapljica u jediničnom vremenu, što rezultira većim padom temperature (i većom relativnom vlažnošću) medija za sušenje. Ipak, pri sve tri brzine dotoka uzorka, izlazna temperatura bila je veća od 60,0 °C.

Dalje je ispitivan utjecaj brzine protoka komprimiranog zraka, na efikasnost sušenja. Procesi sušenja raspršivanjem vođeni su pri najbržem dotoku uzorka (od 5,64 g/min), ulaznoj temperaturi od 120,0 °C, te pri kapacitetu rada aspiratora od 50 %. Proučavane vrijednosti protoka komprimiranog zraka bile su 500 Nl/h, 600 Nl/h, 700 Nl/h i 800 Nl/h. Vrijednost od 500 Nl/h odbačena je zbog nedovoljno efikasnog procesa sušenja.

Temeljem provedenih preliminarnih postupaka sušenja definirane su razine procesnih parametara uključenih u eksperimentalni dizajn, kao i nepromjenjive vrijednosti preostalih procesnih parametara kako slijedi: brzina dotoka uzorka od 2,12, 3,92 i 5,64 g/min, kapacitet rada aspiratora od 25, 50 i 75 %, ulazna temperatura od 140,0 °C (srednja vrijednost ispitivanog raspona) te brzina protoka komprimiranog zraka od 700 Nl/h (srednja vrijednost raspona pri kojem je dobiven suhi produkt).

U tablici 3. prikazani su parametri procesa sušenja raspršivanjem postavljeni eksperimentalnim dizajnom za svaki od devet različitih eksperimenata, te svojstva tako pripravljenih alginatnih mikročestica.

Dobiveni podaci analizirani su programom za statističku obradu podataka JMP kako bi se uspostavili regresijski modeli odnosa između procesnih parametara i odgovora sustava. Te jednadžbe prikazane su u tablici 4.

Tablica 3. Prikaz variranih parametara procesa sušenja raspršivanjem otopine natrijevog alginata (0,5%, *m/V*) i svojstava pripravljenih alginatnih mikročestica. Svi postupci sušenja raspršivanjem vođeni su pri ulaznoj temperaturi od 140,0 °C i protoku komprimiranog zraka kroz sapnicu 700 Nl/h.

Uzorak	Kapacitet rada aspiratora (%)	Brzina dotoka uzorka (g/min)	Izlazna temperatura (°C)	Iskorištenje (%)	Sadržaj vlage (%)	Srednji promjer čestica (μm)
1	25	2,12	84,5±0,5	49,9±0,5	10,15±0,39	3,14±0,17
2	50	2,12	89,0±1,0	52,2±0,6	11,51±0,29	2,82±0,13
3	75	2,12	96,3±1,3	59,6±1,9	9,75±0,04	3,01±0,08
4	25	3,92	74,3±2,3	45,7±1,3	10,50±0,14	2,89±0,09
5	50	3,92	82,3±0,8	46,9±2,1	10,90±0,09	2,80±0,04
6	75	3,92	90,0±3,0	49,0±0,7	10,50±0,17	2,90±0,05
7	25	5,64	72,5±1,5	40,2±1,3	10,55±0,46	2,97±0,18
8	50	5,64	79,0±2,0	44,8±1,2	10,35±0,00	2,82±0,02
9	75	5,64	80,5±4,5	50,0±0,4	10,30±0,41	2,86±0,06

Prikazane su srednje vrijednosti±standardna devijacija (n=2).

Tablica 4. Regresijski modeli odnosa između procesnih parametara i odgovora sustava

Regresijski modeli	R^2
Iskorištenje (%)=51,00–2,5362**v** + 0,1513k+0,000097(v–3,893)(k–50)	0,8316 (1)
Srednji promjer (μm)=3,1076–0,0301v–0,0115k–0,00014(v–3,8933)(k–50)	0,1299 (2)
Sadržaj vlage (%)=10,79–0,0043k–0,019v(k–50)(v–3,893)×0,00094	0,0318 (3)

v – brzina dotoka uzorka (g/min); k – kapacitet rada aspiratora (%)

Iskorištenje

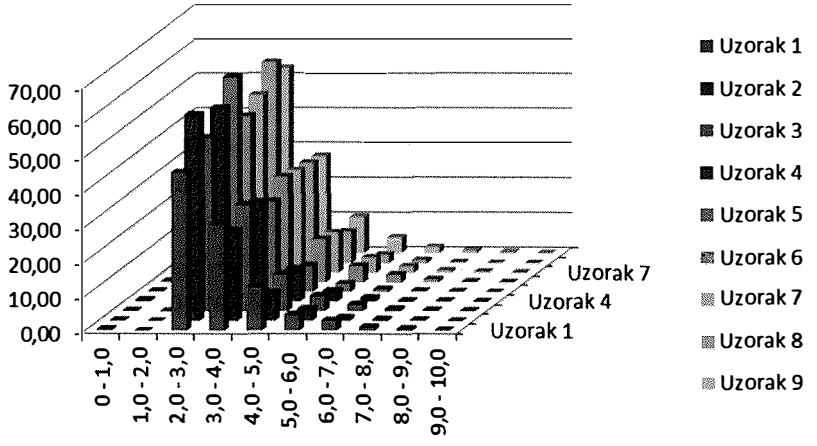
Iskorištenje procesa kretalo se između 40,2 i 59,6 % (tablica 3). Uočen je značajan utjecaj brzine dotoka uzorka (P=0,00002) i kapaciteta rada aspiratora (P=0,0001) na iskorištenje procesa sušenja raspršivanjem. Povećanje brzine dotoka uzorka rezultiralo je smanjenjem iskorištenja procesa. S druge strane, povećanje kapaciteta rada aspiratora rezultiralo je povećanjem iskorištenja procesa (tablica 4; jednadžba 1.). Sukladno tome, najveće iskorištenje postignuto je pri najvećem kapacitetu rada aspiratora (75 %) i najsporijem dotoku

uzorka (2,12 g/min). Takvi rezultati u skladu su s očekivanjima. Naime, uzorak se pri većoj brzini dotoka raspršuje u veće kapljice, s obzirom da se ista energija raspršivanja troši na veći volumen uzorka u jediničnom vremenu, pa je površina s koje isparava otapalo manja. Također, veći je volumen otapala kojeg je potrebno osušiti u istom vremenu i pri istom protoku medija za sušenje. Pri takvim uvjetima sušenje je manje efikasno, što rezultira prianjanjem nedovoljno osušenih čestica za stijenke uređaja i smanjenjem iskorištenja procesa. Tonon i suradnici (2008.) sušili su raspršivanjem otopinu akai praha te ispitivali utjecaj procesnih parametara na svojstva suhog produkta. Jednako kao i u ovom radu, zaključeno je da se iskorištenje procesa smanjuje povećanjem brzine dotoka uzorka, što je izravno povezano s transferom mase i topline (9). S druge strane, pri većem kapacitetu rada aspiratora, veći je protok zraka kroz uređaj što rezultira većom centrifugalnom silom i učinkovitijom separacijom čestica u ciklonu, odnosno većim iskorištenjem procesa (4).

Veličina čestica

Srednji promjer alginatnih mikročestica bio je u rasponu od 2,80±0,04 μm do 3,14±0,17 μm (tablica 3.). Promjer čestica kretao se od 0,5 do 9,5 μm, s najvećim udjelom čestica u razredu od 2,0 do 3,0 μm (slika 1.), što okvirno odgovara literaturnim podacima.

Primjerice, Coppi i suradnici (2001.) sušili su raspršivanjem 1 %-tnu vodenu otopinu natrijevog alginata i goveđeg serumskog albumina pomoću uređaja Büchi 190 Mini Spray Dryer. Uvjeti sušenja bili su sljedeći: ulazna temperatura 140 °C, izlazna temperatura 60–65 °C, brzina dotoka uzorka 5 mL/min,



Slika 1. Raspodjela veličina alginatnih mikročestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem pri različitim procesnim parametrima

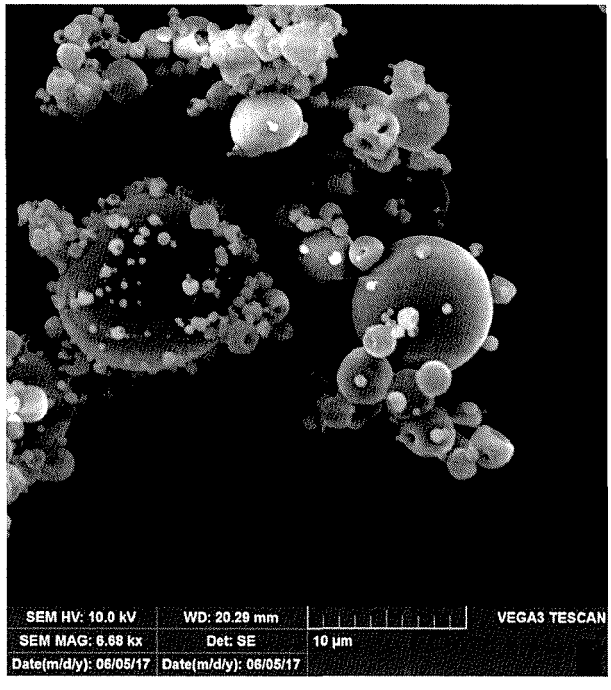
protok komprimiranog zraka 600 Nl/h, kapacitet rada aspiratora od 50 %. Korištena je bifluidna sapnica promjera 0,5 mm. Promjer dobivenih čestica također je bio u rasponu od 0 do 10 μm, s tim da je najveći broj čestica imao promjer od 1–2 μm, dok je srednji promjer iznosio 1,72±1,00 μm. Otopinu natrijevog alginata koncentracije od 1 % i goveđeg serumskog albumina koncentracije od 10 % sušili su raspršivanjem Möbus i suradnici (2012.) na uređaju Büchi 190 Mini Spray Dryer. Postavljeni su sljedeći uvjeti sušenja raspršivanjem: ulazna temperatura 140–145 °C, brzina dotoka uzorka 5–7 g/min, protok komprimiranog zraka 600–650 NL/h, tlak aspiratora 50 mbar, izlazna temperatura 70–80 °C. Srednji promjer čestica iznosio je 2,8±2,3 μm (10). Ti rezultati poklapaju se s promjerima čestica dobivenim u ovom radu.

Statističkom analizom nije utvrđena međuovisnost ispitivanih procesnih parametara i veličine čestica (tablica 4., jednadžba 2.). Statistička analiza prikupljenih podataka rezultirala je regresijskim modelom odnosa između ispitivanih procesnih parametara i veličine čestica s vrijednošću R^2=0,1299 te vrlo malim koeficijentima u jednadžbi koji pokazuju insignifikantan utjecaj brzine dotoka uzorka (P=0,264) i kapaciteta rada aspiratora (P=0,410) na srednji promjer alginatnih mikročestica. Ovaj rezultat iznenađuje jer je za očekivati da će i brzina dotoka uzorka te brzina protoka zagrijanog zraka, odnosno postavka aspiratora, utjecati na veličinu čestica. Naime, kao što je već istaknuto, kod većeg kapaciteta rada aspiratora veći je protok zraka za sušenje, što rezultira većom centifugalnom silom u ciklonu i boljom separacijom manjih čestica iz struje plina za sušenje, što bi trebalo utjecati na dobivenu raspodjelu veličina čestica. S druge strane, što je brzina dotoka uzorka veća, veće su kapljice koje ulaze u komoru za sušenje te se sušenjem dobivaju veće čestice. Chawla i suradnici (1994.) pokazali su da interakcija između kapaciteta rada aspiratora i koncentracije otopine utječe na veličinu čestica. U navedenom istraživanju sušena je otopina salbutamol sulfata korištenjem uređaja Büchi 190 Mini Spray Dryer promjera sapnice od 7 mm. Cilj je bio dobiti čestice pogodne za dostavu u pluća. Dobivene čestice imale su promjer između 4,4 i 4,7 μm (<5 μm), što je prikladno za pulmonalnu primjenu. Primijećeno je da najveće čestice (promjera 4,7 μm) nastaju pri punom radnom kapacitetu aspiratora, uz sušenje otopine najveće koncentracije (11).

Mikroskopskom analizom veličine čestica nisu zabilježene čestice manje od 2,0 μm (slika 1.). Međutim, SEM mikrografije odabranog uzorka prikazuju da takvih čestica ima u uzorku, ali da su adsorbirane na površinu većih čestica (slika 2.). Moguće je da je korelacija promatranih procesnih parametara i veličine izostala, jer odabranom metodom nije bilo moguće detektirati i odrediti udio najmanjih čestica te tako u potpunosti ispitati utjecaj promatranih parametara na veličinu čestica suhog produkta.

Morfologija čestica

Za razvoj novog terapijskog sustava, morfologija čestica od iznimnog je značaja. Oblik čestica važno je svojstvo koje utječe na reološka svojstva praška, ali i ponašanje terapijskog sustava nakon primjene (12). Na slici 2. prikazana je SEM mikrografija alginatnih mikročestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem pri brzini dotoka uzorka od 3,92 g/min i pri kapacitetu rada aspiratora od 25 %. Većina čestica je pravilnog (sferičnog) oblika te glatke površine. Čestice su neporozne. Određeni broj čestica ima uvrnuća na površini te nalikuju na klobuk gljive. Uvrnuća na površini mikročestica javljaju se kod sušenja raspršivanjem polimernih otopina kod kojih je brzina isparavanja otapala veća od difuzije otopljenog polimera prema jezgri kapljice (Pecletov broj je veći od 1). Naime, površina čestice prva dolazi u kontakt sa zagrijanim zrakom uslijed čega s površine kapljice isparava otapalo te se povećava koncentracija otopljene tvari na površini kapljice. Stvara se koncentracijski gradijent koji uzrokuje difuziju otopljene tvari prema području manje koncentracije, odnosno središnjem dijelu kapljice. Polimeri, zahvaljujući velikoj molekulskoj masi, sporo



Slika 2. SEM mikrografija alginatnih mikročestica (povećanje 6680×) pripravljenih sušenjem raspršivanjem otopine natrijevog alginata (0,5%, *m/V*) pri brzini dotoka uzorka od 3,92 g/min, kapacitetu rada aspiratora od 25 %, ulaznoj temperaturi sušenja 140,0 °C i protoku komprimiranog zraka od 700 Nl/h.

difundiraju, a posljedica toga je formiranje čvrste ovojnice na površini raspršene kapljice. Ovisno o debljini i fleksibilnosti ovojnice, moguće je očekivati različite deformacije površine čestica u daljnjem procesu sušenja (13). Iskandar i suradnici (2003.) u svom istraživanju nanostrukturiranih čestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem kao mogući razlog nastanka »klobučastih« čestica navode gubitak strukturne stabilnosti kapljice zbog dodatnih makro- i mikrohidrodinamičkih efekata na dodirnom području dvije faze (tekuće i plinovite) tijekom procesa sušenja (14).

I Nandiyanto i Okuyama (2011.) proučavali su utjecaje raznih čimbenika na veličinu i morfologiju čestica dobivenih sušenjem raspršivanjem te su došli do sličnih zaključaka. Hidrodinamički učinci imaju važnu ulogu u regulaciji morfologije čestica. Brzina protoka plina za sušenje i temperatura sušenja najviše utječu na konačan oblik i strukturu čestice. Povećanje brzine protoka zraka uzrokuje destabilizaciju oblika kapljice. Smanjenje vremena koje čestica provede u komori za sušenje treba kompenzirati povišenjem ulazne temperature kako bi se dobila potpuno suha čestica (15).

Sferične čestice nastat će u uvjetima sušenja pri kojima su kapljice male, a molekule otopljenih tvari unutar kapljice jako male ili jako velike. S druge strane, prstenaste odnosno toroidne čestice mogu se proizvesti ukoliko je sušena kapljica velika, pri visokoj temperaturi i velikoj brzini protoka zraka, uz dodatak surfaktanta. Ceschan i suradnici sušili su raspršivanjem otopinu alginata i beta-blokatora atenolola u raznim omjerima. Morfologija suhih čestica također je proučavana pretražnom elektronskom mikroskopijom. Čvrste čestice ishodnog polimera natrijevog alginata bile su nepravilne s grubim i poroznim površinama. Nakon sušenja raspršivanjem 1 %-tne vodene otopine natrijevog alginata nastale su toroidne čestice, a bilo je i izduženih čestica nalik na vlakna (16).

Sadržaj vlage

Izmjeren sadržaj vlage kretao se između 9,75±0,04 i 11,51±0,29 % (tablica 3.), te je općenito relativno velik. Primjerice, Takeuchi i suradnici koristili su uređaj s rotirajućom atomizirajućom sapnicom za sušenje raspršivanjem otopine natrijevog alginata i laktoze pri brzini dotoka otopine od 50 mL/min, ulaznoj temperaturi 175 °C i izlaznoj temperaturi 100 °C (17). Sadržaj vlage određen je metodom po Karl-Fischeru. Prosječan promjer čestica iznosio je od 15,3 do 16,4 μm, ovisno o omjeru natrijevog alginata i laktoze. Sadržaj vlage iznosio je redom 4,52±0,16 %, 4,90±0,06 % i 5,02±0,17 % za uzorke pripravljene pri masenom omjeru natrijevog alginata i laktoze od 9:1, 8:2 i 7:3, što je upola manje od izmjerenog sadržaja vlage u ovom radu. Ceschan i suradnici

sušili su otopine natrijevog alginata i beta-blokatora atenolola pri različitim masenim omjerima. Korišten je uređaj za sušenje raspršivanjem Büchi B-290 Mini Spray Dryer s bifluidnom sapnicom promjera 0,5 mm. Ulazna temperatura iznosila je 140 °C, brzina protoka komprimiranog zraka 601 L/h, a brzina dotoka uzorka 6 mL/min. Iskorištenja su bila relativno velika, između 45,84 i 72,70 %. Sadržaj vlage bio je između 3,43 i 5,32 %, što pokazuje da je sušenje bilo učinkovito. Sušenje raspršivanjem 1 %-tne vodene otopine natrijevog alginata (bez dodatka atenolola) rezultiralo je mikročesticama s najvećim sadržajem vlage (7,24 %), zbog higroskopnosti korištenog polimera. Ista istraživačka skupina provela je sušenje raspršivanjem otopine natrijevog alginata i atenolola, te otopine natrijevog alginata, atenolola i kalija, pri čemu je koncentracija natrijevog alginata bila 1 %. Sušenje raspršivanjem provedeno je uređajem Büchi B-290 Mini Spray Dryer s bifluidnom sapnicom promjera 0,5 mm pri ulaznoj temperaturi od 140 °C, brzini dotoka uzorka od 6 mL/min i protoku komprimiranog zraka 742 L/h. Oba uzorka razdvajana u standardnom ciklonu imali su sadržaj vlage ispod 5 % (3,95±0,14 % i 2,97±1,10 %), što govori da je proces sušenja bio uspješan. Iako su uvjeti sušenja usporedivi, sadržaj ostatne vlage bio je i više nego dvostruko manji nego sadržaj vlage u alginatnim mikročesticama ispitivanima u ovom radu (16).

Statističkom obradom rezultata nije utvrđen utjecaj promatranih parametara na sadržaj vlage u suhom uzorku. Dobiven je regresijski model s R^2 koji iznosi 0,0318, te s vrlo malim koeficijentima u jednadžbi (tablica 4.; jednadžba 3.) koji pokazuju insignifikantan utjecaj brzine dotoka uzorka (P=0,853) i kapaciteta rada aspiratora (P=0,544) na sadržaj vlage alginatnih mikročestica. U teoriji, oba promatrana parametra trebala bi imati utjecaj na ostatnu vlagu u produktu. Naime, pri većoj brzini dotoka uzorka zabilježena je niža izlazna temperatura (tablica 2.), što bi, u usporedbi s procesima sušenja vođenim pri jednakim ostalim parametrima sušenja, trebalo rezultirati smanjenjem kapaciteta sušenja, odnosno većim sadržajem vlage (18). Nadalje, postavka rada aspiratora, odnosno brzina protoka medija za sušenje također bi trebala utjecati na sadržaj vlage, jer pri većem kapacitetu rada aspiratora, čestice kraće vremena provedu u komori za sušenje te imaju veći sadržaj vlage (4).

S obzirom da u ovom radu nije utvrđen utjecaj procesnih parametara na sadržaj vlage u produktu, a isto tako i da je sadržaj vlage relativno velik u usporedbi sa sadržajem vlage u alginatnim mikročesticama pripravljenim sušenjem raspršivanjem pri usporedivim procesnim uvjetima (15, 16), pretpostavka je da je vlaga određena termogravimetrijskom analizom, adsorbirana na alginatne mikročestice nakon procesa sušenja raspršivanjem (prilikom hlađenja uređaja i sakupljanja produkta iz prihvatne posudice pri ambijentalnim uvjetima), a kao posljedica njihove higroskopnosti.

Nakupljanje vlage u osušenom produktu uočeno je i kod kitozanskih mikročestica s mupirocinom pripravljenih sušenjem raspršivanjem iz otopine u smjesi vode i metanola (19). Provedeni su razni eksperimenti s ciljem smanjenja sadržaja vode u česticama. Variranje ulazne temperature u rasponu od 110–140 °C te variranje kapaciteta rada pumpe u rasponu od 20–30 % nije imalo značajnog utjecaja na količinu vlage u produktu. Sadržaj vlage u kitozanskim mikročesticama s mupirocinom kretao se od 6,1 do 6,9 %. S ciljem daljnjeg smanjenja udjela vlage, ispitan je utjecaj sekundarnog sušenja. Mikročestice su nakon izrade dodatno sušene 24 sata u vakuum sušnici pri temperaturi od 30 °C i tlaku od 10 mbar. Usprkos tome, postotak vode u česticama izmjeren termogravimetrijskom analizom nakon ponovnog sušenja bio je vrlo sličan onome prije sekundarnog sušenja. Zatim je provedena izotermna termogravimetrijska analiza pri 30 °C u trajanju od 24 sata. U tom procesu skoro sva voda iz uzorka je uklonjena, no nakon ponovnog izlaganja mikročestica okolišnim uvjetima dolazi do adsorpcije atmosferske vlage. Iz svega navedenog može se zaključiti da sadržaj vlage u česticama, osim o parametrima sušenja, ovisi i o sastavu čestica, higroskopnosti sušenih tvari i uvjetima prikupljanja i skladištenja uzorka.

ZAKLJUČAK

Alginatne mikročestice uspješno su pripravljene metodom sušenja raspršivanjem vodene otopine natrijevog alginata (0,5 %, *m*/*V*) pri različitim brzinama dotoka uzorka i protocima medija za sušenje te pri konstantnim postavkama ulazne temperature i protoka komprimiranog zraka kroz sapnicu promjera 0,5 mm. Uočen je značajan utjecaj variranih parametara na iskorištenje procesa: povećanje brzine protoka uzorka rezultiralo je smanjenem iskorištenja procesa, dok je povećanje kapaciteta rada aspiratora uzrokovalo povećanje iskorištenja procesa. Pripravljene mikročestice većinom su pravilnog (sferičnog) oblika, neporozne i glatke površine. Neke čestice imaju uvrnutu površinu te nalikuju na klobuk gljive. Relativno veliki sadržaj vlage alginatnih mikročestica, neovisan o brzini dotoka uzorka i o brzini protoka medija za sušenje, pripisuje se sorpciji atmosferske vlage na higroskopne alginatne mikročestice nakon procesa sušenja raspršivanjem. Rezultati provedenog istraživanja mogu poslužiti kao orijentir pri razvoju alginatnih terapijskih sustava metodom sušenja raspršivanjem.

ZAHVALA

Zahvaljujemo Matiji Gretiću, mag. ing. cheming., asistentu na Zavodu za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, na analizi uzoraka pretražnom elektronskom mikroskopijom.

Literatura – References

1. Keegan MJ, Randall G, Bernstein H, Straub J, Chickering D. 2001. U.S. Patent 6,308,434
2. Jalšenjak I, Jalšenjak V, Filipović-Grčić J. Farmaceutika. Zagreb, Školska knjiga, 1998; 20
3. Solohub K, Cal K. Spray drying technique: II. Current applications in pharmaceutical technology, J Pharm Sci, 2009
4. Singh A, Van den Mooter G. Spray drying formulation of amorphous solid dispersions, Adv Drug Deliv Rev, 2015
5. Langrish T, Chiou D. Producing powders of hibiscus extract in a laboratory-scale spray dryer, Int J Food Eng, 2008; 4(3):1556–3758
6. Ahlneck C, Zografi G. The molecular basis of moisture effects on the physical and chemical stability of drugs in the solid state, Int J Pharm, 1990; 87–95
7. Kanojiaa G, Willems GJ, Frijlink HW, Kersten GF, Soema PC, Amorij JP. A Design of Experiment approach to predict product and process parameters for a spray dried influenza vaccine. Int J Pharm, 2016; 511(2):1098–111
8. Tønnesen HH, Karlsen J. Alginate in Drug Delivery Systems. Drug Dev Ind Pharm, 2002; 621–630
9. Tonon RV, Brabet C, Hubinger MD. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (Euterpe oleraceae Mart.) powder produced by spray drying. J Food Eng, 2008; 411–418
10. Coppi G, Iannunccelli V, Leo E, Bernabei MT, Cameroni R, Chitosan-alginate microparticles as a protein carrier, Drug Devel Ind Pharm, 2001; 27(5), 393–400
11. Chawla A, Taylor KMG, Newton JM, Johnson MCR. Production of spray dried salbutamol sulphate for use in dry powder aerosol formulation, Int J Pharm, 1994; 233–240
12. Geng Y, Dalhaimer P, Cai S, Tsai R, Tewari M, Minko T, Discher DE. Shape effects of filaments versus spherical particles in flow and drug delivery. Nat nanotechnol, 2007; 2(4):249–55
13. Vehring R. Pharmaceutical particle engineering via spray drying, Pharm Res, 2008.
14. Iskandar F, Gradon L, Okuyama K. Control of the morphology of nanostructured particles prepared by the spray drying of a nanoparticle sol. J Col Int Sci, 2003; 296–303
15. Nandiyanto ABD, Okuyama K. Progress in developing spray-drying methods for the production of controlled morphology particles: From the nanometer to submicrometer size ranges, Adv Powd Tech, 2011; 1–19
16. Ceschan NE, Bucala V, Ramirez-Tigo MV. New alginic acid-atenolol microparticles for inhalatory drug targeting, Materials Science & Engineering C, 2014.
17. Takeuchi H, Yasuji T, Hino T, Yamamoto H, Kawashima Y. Spray-dried composite particles of lactose and sodium alginate for direct tabletting and controlled releasing. Int J Pharm, 1998; 91–100
18. Stähl K, Claesson M, Lilliehorn P, Linden H, Backstrom K. The effect of process variables on the degradation and physical properties of spray dried insulin intended for inhalation. Int J Pharm, 2002; 227–237
19. Lusina Kregar M, Razvoj in vitro metode za ispitivanje oslobađanja djelatnih tvari iz polimernih mikročestica za topičku primjenu, doktorska disertacija, 2016.

Primljeno 8. svibnja 2018.