

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

Univerza *v Ljubljani*
Fakulteta *za farmacijo*



LEON RIŽNER

**DOLOČANJE DEBELINE FILMSKE OBLOGE PELET Z DINAMIČNO SLIKOVNO
ANALIZO**

**DETERMINATION OF PELLET FILM COATING THICKNESS BY DYNAMIC
IMAGE ANALYSIS**

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2018

Magistrsko nalogo sem opravljal v farmacevtski družbi Lek, d. d., Ljubljana, na oddelku za Farmacevtsko tehnologijo pod mentorstvom doc. dr. Ilije German Ilića, mag. farm. in somentorstvom dr. Mihe Jakliča, mag. farm..

ZAHVALA

Magistrsko nalogo posvečam sebi, ki sem si skozi študijska leta z vzponi in padci vedno znova dokazoval kaj zmorem in z vsakim novim izzivom osebno raste.

Največja zahvala gre družini, ki me je vsa leta podpirala in verjela vame.

Zahvala gre prijateljem Žar crewja, ki ste vsako leto znova poskrbeli za mozaik spominov študentskega življenja.

Zahvaljujem se izr. prof. dr. Iliji Germanu Iliću za mentorstvo in strokovno pomoč pri nastajanju magistrske naloge. Iskreno se zahvaljujem dr. Mihi Jakliču za pomoč, nasvete in spodbudo od idejne zasnove do končne magistrske naloge.

Hvala vsakemu posameznemu sodelavcu skupine FT1. Vi ste razlog, da sem po študentskem delu svojo prihodnost videl v Farmacevtskem razvoju.

IZJAVA

Izjavljam, da sem magistrsko delo izdelal samostojno pod mentorstvom izr. prof. dr. Ilije German Ilića in somentorstvom dr. Mihe Jakliča.

Leon Rižner
Ljubljana, 2018

Komisija za zagovor:

Predsednik komisije: izr. prof. dr. Simon Žakelj

Mentor: doc. dr. Ilija German Ilić

Somentor: dr. Miha Jaklič

Članica komisije: doc. dr. Nataša Karas Kuželički

KAZALO VSEBINE

KAZALO SLIK.....	III
KAZALO PREGLEDNIC.....	V
POVZETEK	VIII
ABSTRACT	IX
KLJUČNE BESEDE	X
KEYWORDS	X
SEZNAM OKRAJŠAV.....	X
1 UVOD	1
1.1 Pelete	1
1.1.1 Tehnologija iztiskanja in krogličnja	2
1.1.2 Tehnologije oblaganja	4
1.2 Vrednotenje delcev	6
1.2.1 Parametri velikosti.....	6
1.2.2 Porazdelitev velikosti delcev	6
1.2.3 Lastnosti porazdelitvene krivulje	8
1.2.4 Številčno, površinsko in volumsko obtežena porazdelitev	9
1.2.5 Parametri oblike	10
1.3 Slikovna analiza.....	11
1.4 Reprezentativnost vzorca.....	12
2 NAMEN	14
3 MATERIALI IN METODE	15
3.1 Materiali.....	15
3.1.1 Vrednotenje tehnik sekundarnega vzorčenja.....	15
3.1.2 Pelete uporabljene za oceno merjenja debeline obloge.....	15

3.1.3	Steklene kroglice pravilne oblike	15
3.2	Metode	16
3.2.1	Vrednotenje tehnik sekundarnega vzorčenja.....	16
3.2.2	Dinamična slikovna analiza	18
3.2.3	Statična slikovna analiza	22
3.2.4	Laserska difraktometrija.....	23
3.2.5	Sejalna analiza.....	25
3.2.6	Vrstični elektronski mikroskop (SEM)	25
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	27
4.1	Rezultati dinamične slikovne analize	27
4.1.1	Ponovljivost dinamične slikovne analize	27
4.1.2	Vpliv oblike merjenih delcev na parametre velikosti.....	27
4.1.3	Vpliv sekundarnega vzorčenja	30
4.1.4	Vpliv velikosti vzorca na meritev z dinamično slikovno analizo	34
4.1.5	Ocena debeline filmske obloge	36
4.2	Rezultati drugih metod in primerjava z dinamično slikovno analizo	40
4.2.1	Vrstični elektronski mikroskop	40
4.2.2	Statična slikovna analiza	43
4.2.3	Sejalna analiza.....	45
4.2.4	Laserska difraktometrija.....	50
5	SKLEP.....	54
6	LITERATURA.....	56

KAZALO SLIK

Slika 1: Shematski prikaz različnih tipov ekstrudorja. Zgoraj: vijalni aksialni, vijalni radialni, batni ekstrudor. Spodaj: gravitacijski rotacijski, gravitacijski z zobniki, gravitacijski radialni (6)	3
Slika 2: Shematski prikaz kroženja materiala med krogličanjem (8).....	3
Slika 3: Mehanizem nastanka pelet po Rowe-u (a), Beart-u (b), Liew-u (c) in Koesterju (d). Nastanek pelet je časovno prikazan iz leve proti desni (8)	4
Slika 4: Shema gibanja delcev pri oblaganju z Wurster tehnologijo (10).....	5
Slika 5: Shematski prikaz vpliva širine razredov na obliko histograma (prvi in drugi graf); Prikaz vpliva na obliko histograma, če razdelimo tretji razred drugega grafa na pol na gostotni prikaz (tretji graf) in frekvenčni prikaz (četrti graf); Primer undersize (modro) in oversize (rumeno) kumulativnega prikaza distribucije. Povzeto po (12).	7
Slika 6: Različno obtežene distribucije 30 delcev po 10 delcev z velikostjo 2 μm , 4 μm in 6 μm (grafični prikaz delcev na levi).....	10
Slika 7: Prikaz vpliva resolucije na obliko delca, ki jo zajema senzor (18).....	11
Slika 8: Grafični prikaz delcev z različno višino v orientaciji z najnižjo mehansko energijo in vpliv na projekcijo.....	12
Slika 9: Shematski prikaz sekundarnega vzorčenja z deljenjem na četrtine. Od leve proti desni: sploščen stožec, delitev navpično, delitev vodoravno, vzorec razdeljen na četrtine.....	16
Slika 10: Skica kanalnega razdelilnika (12).....	17
Slika 11: Shematski prikaz Camsizer-ja in pripadajočih modulov (24).....	19
Slika 12: Podsluka a: Originalna fotografija; Podsluka b: 8-bitna fotografija; Podsluka c: Binarna fotografija; Podsluka d: Po dvojni Erode funkciji; Podsluka e: Po dvojni dilate funkciji; Podsluka f: Obrisi delcev	23
Slika 13: Mastersizer 3000 - merilna naprava v ozadju, disperzni moduli (mokra, suha, mokra) v ospredju (28)	24

Slika 14: Prikaz vpliva orientacije paličastega delca (vrstica spodaj) na njegovo projekcijo (vrstica zgoraj) s pripadajočimi parametri velikost (T – premer minimalne tetive, A – površina iz katere se izračuna X_{area} , $Fe - Fe_{max}$)	29
Slika 15: Grafični prikaz relativnega standardnega odklona velikosti delcev nepravilne oblike (pelete, polna črta) in pravilne okrogle oblike (steklene kroglice, črtkana črta) v različnih percentilih za posamezne parametre velikosti.....	30
Slika 16: Relativni standardni odklon v različnih percentilih za: C – vzorec pripravljen s kanalnim razdelilnikom, DNČ10 – vzorec deljenja na četrtine, SPM – vzorčenje s spatulo po mešanju, SPZV – vzorčenje s spatulo pred mešanjem.....	33
Slika 17: Graf velikosti v 50. percentilu in pripadajoči standardni odklon po različnih masah vzorca.	35
Slika 18: Graf relativnega standardnega odklona za 10., 50. in 90. percentil po različnih masah vzorca	35
Slika 19: Rezultati meritev 50. procentila in pripadajoči standardni odkloni ter model z mejami intervala zaupanja modela pri 95% verjetnosti za vzorec FOP2.....	38
Slika 20: Rezultati meritev 50. procentila in pripadajoči standardni odkloni ter model z mejami intervala zaupanja modela pri 95% verjetnosti za vzorec FOP3.....	38
Slika 21: Slika filmske obloge posneta s vrstičnim elektronskim mikroskopom in primer opravljenih meritev na peleti vzorca FOP2-10. Na levi strani slike je prikazano površje obloge, na desni pa jedro.....	42
Slika 22: Grafični prikaz rezultatov 50. percentila SIA (zeleno) in DIA (modro) s parametrom velikosti Fe_{min} za vzorce eksperimenta FOP3 pri masnem nanosu 3 %, 5 % in 7 %.....	44
Slika 23: Histogrami treh ponovitev sejlnih analiz eksperimenta FOP3 pri masnem nanosu 3 % (levi histogram), 5 % (sredinski histogram) in 7 % (desni histogram).....	45
Slika 24: Kumulativni prikaz treh ponovitev sejlnih analiz vzorca FOP3-03.	46
Slika 25: Kumulativni prikaz rezultatov sejlnih analiz vzorca FOP3 pri 3 %, 5 %, in 7 % masnega nanosa.....	46

Slika 26: Grafični prikaz velikosti 50. percentila za vzorce eksperimenta FOP3 s 3 %, 5 % in 7 % masnim nanosom pridobljenih s interpolacijo sejalne analize (vijolično) in DIA T_{min} (modro).	47
Slika 27: »Oversize« kumulativni prikaz prileganih logističnih porazdelitev za vzorce FOP3 s 3 %, 5 % in 7 %	48
Slika 28: Grafični prikaz velikosti 50. percentila za vzorce eksperimenta eksperimenta FOP3 s 3 %, 5 % in 7 % masnim nanosom pridobljenih s prileganjem logistične porazdelitve (modro) in DIA $T_{e_{min}}$ (rdeče).	49
Slika 29: Grafični prikaz povprečnih rezultatov 50. percentila suhe celice laserske difraktometrije (modro) in dinamične slikovne analize (zeleno) s parametrom velikosti X_{area} za vzorce eksperimenta FOP3 pri masnem nanosu 3 %, 5 % in 7 %	51
Slika 30: Grafični prikaz rezultatov 50. percentila mokre celice laserske difraktometrije (rumeno) in DIA (modro) s parametrom velikosti X_{area} za vzorce eksperimenta FOP3 pri masnem nanosu 3 %, 5 % in 7 %	52

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Definicija širine distribucije glede na razmerje 90. in 10 percentila (12).....	8
Preglednica II: Pregled vzorcev jeder in pelet z različnim masnim nanosom filmske obloge. * Dvojni XX nadomesti količina nanešene obloge (npr. FOP-05 je vzorec pelet z masnim nanosom 5%).....	15
Preglednica III: Pregled oznak in mase vzorcev pripravljenih s kanalnim razdelilnikom. * vzorci niso bili tehtani, masa je ocenjena na podlagi manjših vzorcev znane mase	18
Preglednica IV: Rezultati velikosti 10., 50. in 90. percentila, njihovo povprečje, standardni odklon in RSD.....	27
Preglednica V: Relativni standardni odklon med ponovitvami meritev vzorca FOP1-00 v 10., 50. in 90. percentilu za parametra velikosti T_{min} in $F_{e_{min}}$	28
Preglednica VI: Rezultati parametrov oblike za FOP1-00 in steklene kroglice.....	28

Preglednica VII: Relativni standardni odklon in absolutne vrednosti velikosti v 10., 50., in 90. percentilu med parametri velikosti za vzorec pelet FOP1-00 in steklene kroglice	29
Preglednica VIII: Povprečna velikost, standardni in relativni standardni odklon v 10., 50. in 90. percentilu. C – vzorec pripravljen s kanalnim razdelilnikom, DNČ10 – vzorec deljenja na četrtine, SPM – vzorčenje s spatulo po mešanju, SPZV – vzorčenje s spatulo pred mešanjem. masa vzorcev ~ 10 g	31
Preglednica IX: Povprečni rezultati velikosti in standardni odkloni številčne porazdelitve v 10., 50. in 90. percentilu za vzorca SPZV - vzorčenje s spatulo pred mešanjem. masa vzorcev in SPM – vzorčenje s spatulo po mešanju	31
Preglednica X: Povprečna velikost, standardni in relativni standardni odklon v 10., 50. in 90. percentilu. C – vzorec pripravljen s kanalnim razdelilnikom, C1 – C5: združeni rezultati naključnih ponovitev vzorca C, SPM – vzorčenje s spatulo po mešanju.....	32
Preglednica XI: Primerjava relativnega standardnega odklona rezultatov magistrske naloge s literaturnimi (32)	33
Preglednica XII: Povprečni rezultati in pripadajoč standardni ter relativni standardni odklon vzorcev različnih velikostnih razredov v 10., 50. in 90. percentilu	34
Preglednica XIII: Povprečne velikosti in pripadajoč standardni odklon vstopnih jeder in pelet z masnim nanosom obloge 7 % ter izračunana debelina.....	36
Preglednica XIV: Povprečne velikosti in pripadajoči standardni odkloni pelet z masnim nanosom obloge 3 %, 5 % in 7 % ter izračunana debelina filmske obloge pri 8 % masnim nanosom.	36
Preglednica XV: Parametri računskega modela (b_1 naklon premice, b_0 začetni premer peletnih jeder izračunan z modelom), izračunana velikost delcev s končnim nanosom in izračunana debelina obloge s 95% intervalom zaupanja.	37
Preglednica XVI: Izmerjena velikost začetnih jeder z DIA in izračunana velikost začetnih jeder z modelom za eksperimente FOP1, FOP2 in FOP3.	39
Preglednica XVII: Povzetek meritev, izračunane vrednosti in pripadajoče tabelarične kritične F vrednosti. Podana je povprečna debelina in pripadajoči intervali zaupanja med slikami, znotraj slik in upoštevanja vseh meritev.	41

Preglednica XVIII: Rezultati debeline SEM in modela DIA s pripadajočimi intervali zaupanja pri dvostranskem $\alpha=0,05$	42
Preglednica XIX: Rezultati 10., 50. in 90. percentila Statične slikovne analize (SIA) in Dinamične slikovne analize (DIA) za eksperiment FOP3 pri 3 %, 5 % in 7 %.....	43
Preglednica XX: Mase vzorcev eksperimenta FOP3 s 3 %, 5 % in 7 % masnim nanosom ob ponovitvah in relativna razlika mase med ponovitvami.....	45
Preglednica XXI: Rezultati interpolacije sejlane analize in dinamične slikovne analize ($T_{e_{min}}$) v 10., 50. in 90. percentilu vzorcev FOP3 s 3 %, 5 % in 7 % masnega nanosa.....	47
Preglednica XXII: Rezultati sejlane analize s prileganjem logistične porazdelitve in dinamične slikovne analize ($T_{e_{min}}$) 50. percentilu eksperimenta FOP3 vzorcev s 3 %, 5 % in 7 % masnega nanosa.....	48
Preglednica XXIII: Rezultati povprečne velikosti 10., 50. in 90. percentila meritev vzorca FOP3 s suho celico in DIA rezultati s parametrom velikosti X_{area} pri masnem nanosu obloge 3 %, 5 % in 7 %.	50
Preglednica XXIV: Povprečni rezultati 10., 50. in 90. percentila meritev vzorcev eksperimenta FOP3 z mokro celico in povprečni DIA rezultati s parametrom velikost X_{area} pri masnem nanosu obloge 3%, 5% in 7%.....	52

POVZETEK

Dinamična slikovna analiza je ena izmed novejših metod za določanje velikosti delcev, ki je kvalitetna dopolnitev uveljavljenim metodam, kot so sejalna analiza, statična slikovna analiza, laserska difraktometrija in vrstični elektronski mikroskop. Namen magistrske naloge je oceniti primernost dinamične slikovne analize za določanje prirasta debeline filmske obloge na peletah ter rezultate primerjati z že prej omenjenimi uveljavljenimi metodami.

Pri slikovni analizi tridimenzionalno telo analiziramo na podlagi dvodimenzionalnih projekcij iz katerih računsko določimo različne parametre velikosti. Primerjava različnih parametrov velikosti za pravilne kroglice pokaže dobro ujemanje med njimi. Za analizo pelet nepravilnih oblik pa sta najboljši minimalni Ferretov premer in maksimalni premer tetive, saj izkazujeta najmanjši relativni standardni odklon med ponovitvami meritev. Najboljšo reprezentativnost sekundarnih vzorcev smo dosegli s kanalnim razdelilnikom in z vzorčenjem s spatulo po temeljitem mešanju primarnega vzorca. Pokazali smo, da je za analizo debeline filmske obloge, kjer potrebujemo natančne meritve, primeren vzorec med 4 g in 10 g z relativnim standardnim odklonom ponovitev manjšim od 0,7 %, medtem ko je za oceno velikosti pelet dovolj že 200 mg vzorec.

Teoretično je debelina filmske obloge enaka razliki velikosti vstopnih in končnih pelet. Ugotovili smo, da bi tak pristop bil primeren pri določitvah debeline debelejših oblog. Za določitve tanjših oblog pa se je boljše izkazal izračun debeline z modelom linearne regresije, postavljenim z vzorci z različnimi masnimi nanosi obloge. Napovedi modela se od direktnih meritev debeline z vrstičnim elektronskim mikroskopom razlikujejo od 0,6 μm do 2,6 μm pri debelinah filmske obloge manjših od 17 μm . Model se je tako zaradi upoštevanja primarne napake vzorčenja, sekundarne napake vzorčenja in napake merilne naprave izkazal za bistveno primernejšega kot izračun z razliko velikosti.

Primerjava rezultatov s komplementarnimi metodami sejalne analize, statične slikovne analize, vrstičnega elektronskega mikroskopa in laserske difraktometrije so bili primerljivi rezultatom dinamične slikovne analize. Za določitev debeline filmske obloge pa sta dovolj natančni le vrstični elektronski mikroskop in laserska difraktometrija.

ABSTRACT

Dynamic image analysis is one of the novel approaches for measurement of particle size and is complementing more established methods like sieve analysis, static image analysis, laser diffraction and scanning electronic microscope. The purpose of this master thesis is to evaluate the ability of dynamic image analysis in determining pellet film coat thickness and comparing the results of before mentioned methods.

With image analysis we are analysing three-dimensional objects with two-dimensional projections from which different size parameters can be calculated. Evaluation of particle shape on different size parameters showed no significant difference between them when analysing spherical particles. However, analysing irregular shaped particles minimal Ferrets diameter and minimal chord length gave best results with lowest relative standard deviation compared to diameter of circle with equivalent area and maximum Ferrets diameter. Secondary sampling with chute sampler and sampling with spatula after mixing the primary sample, showed best representativeness of the sample. For determining the thickness of pellet film coating, larger samples within 4 g and 10 g resulted in more representative samples with relative standard deviation of less than 0,7 %, while smaller sized samples of 200 mg are enough for size estimation.

Thickness of film coating, in theory, is equal to difference in size of starting cores and end pellets. However this simple mathematical approach is suitable for determination of thick coatings. For thinner coatings a model with linear regression of samples with different weight gain is a better approach. Results of the model showed differences ranging between 0,6 μm and 2,6 μm for coat thickness of less than 17 μm compared to results of scanning electron microscope. The model takes into account primary sampling error, secondary sampling error and error of measurement device, therefore it is superior to the simple approach mentioned above.

The analysis results of selected samples with sieve analysis, static image analysis, laser diffraction and scanning electronic microscope were comparable to dynamic image analysis. However, for determining pellet film coating thickness only laser diffraction and scanning electronic microscope were accurate enough.

KLJUČNE BESEDE

Dinamična slikovna analiza, debelina filmske obloge pelet, elektronski vrstični mikroskop, laserska difraktometrija, sejalna analiza, statična slikovna analiza, parametri oblike, parametri velikosti, dobra vzorčevalna praksa, tehnike sekundarnega vzorčenja, porazdelitev velikosti delcev

KEYWORDS

Dynamic image analysis, pellet film coating thickness, scanning electron microscope, laser diffraction, sieve analysis, static image analysis, shape parameters, size parameters, good sampling practice, secondary sampling techniques, particle size distribution

SEZNAM OKRAJŠAV

SEM – Scanning electron microscope – ang; Vrstični elektronski mikroskop

DIA – Dynamic image analysis – ang; Dinamična slikovna analiza

SIA – Static image analysis –ang; Statična slikovna naliza

$F_{e_{min}}$ – Minimalni Ferretov premer

$F_{e_{max}}$ – Maximum Ferretov premer

X_{area} – Premer kroga ekvivalentne površine

$T_{e_{min}}$ – Premer maksimalne tetive

SD – Standardni odklon

RSD – Relativni standardni odklon

1 UVOD

1.1 Pelete

Pelete uvrščamo med peroralne farmacevtske večenočne oblike, ki jih uporabljamo tako v farmacevtski kot tudi v kemijski, živilski in bio-energetski industriji (1). Pelete so večenočna farmacevtska oblika sestavljene iz številnih manjših prosto tekočih posameznih enot, okroglih ali pol-okroglih oblik (2). Od zrnč se razlikujejo po fizikalnih lastnostih in samem načinu izdelave. Pri obeh gre v principu za večanje osnovnih delcev. Pri zrnčih nastanejo zelo porozni delci (20 – 50 %) s široko velikostno porazdelitvijo, pri peletah pa je ta ožja, delci pa imajo nizko poroznost (~10 %) (1). Pelete najpogosteje polnimo v kapsule, ki predstavljajo končno farmacevtsko obliko, lahko pa so sestavni del suspenzij ali tablet (1,2).

Tehnološko in farmakokinetično prinašajo pelete mnoge prednosti pred enoenotnimi farmacevtskimi oblikami. Tehnologije kot so iztiskanje s sledečim krogličanjem in oblaganjem zagotavljajo večjo natančnost pri doseganju enakomernosti odmerne enote. Dobra pretočnost, v primerjavi s suhimi zmesmi in zrnč, zagotavlja dobro procesibilnost na proizvodnem nivoju, odsotnost prašnih delcev pa se odraža v zmanjšani nevarnosti respiratornega zaužitja in eksplozivnosti med proizvodnjo. Nizko površinsko-prostorninsko razmerje in pravilne oblike omogočajo enakomernejše oblaganje, kar je ključnega pomena predvsem pri oblikah s prirejenim sproščanjem. Z oblaganjem ali polnjenjem kapsul z različnimi peletami lahko združimo farmacevtske učinkovine in jim omočimo različne profile sproščanje, bodisi istih, različnih in/ali nekompatibilnih učinkovin. Posledično lahko zmanjšamo potrebni dnevni odmerek, kar poveča sodelovanje bolnika, varnost in učinkovitost terapije. Posamezne pelete se lahko zaradi svoje velikosti prosto gibljejo po prebavnem traktu, kar izboljša absorpcijo ter zmanjša lokalno draženje in variabilnost absorpcije pri pacientih in med njimi. Zaradi množice manjših enot so farmacevtske oblike, ki vsebujejo pelete manj dovzetne za t.i. »dose dumping«, saj ima nepravilno delovanje ene enote manjše posledice, kot v primeru enoodmerne oblike. Velikost odmerka končne farmacevtske oblike se enostavno prilagodi glede na napolnjenost in/ali velikost kapsul, kar zmanjša kompleksnost in ceno razvoja ter proizvodnje različnih odmerkov (1–3).

Kljub zgoraj naštetim prednostim se slabosti pelet izražajo v kompleksnosti razvoja in proizvodnje. Kompleksna tehnologija prinaša veliko procesnih faz, s tem pa prav toliko

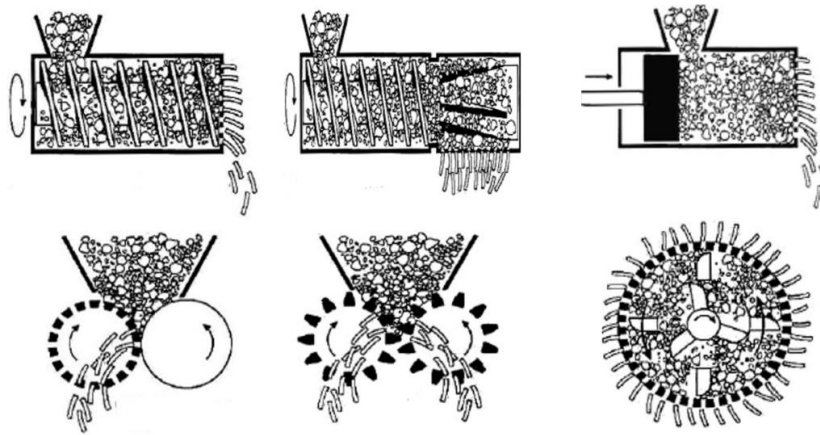
procesnih parametrov in napredno medprocesno kontrolo. Posledica je višja cena in daljši čas razvoja ter proizvodnje (1,2).

1.1.1 Tehnologija iztiskanja in krogličenja

Skozi zgodovino so bile razvite različne tehnologije za izdelavo pelet, vendar je njihova uporabnost v farmacevtski industriji omejena. Med pogosto uporabljenimi so iziskanje in krogličenje, oblaganje, granuliranje s talinami, sušenje z razprševanjem, kriopeletizacija, globulizacija, liofilizacija, itd.

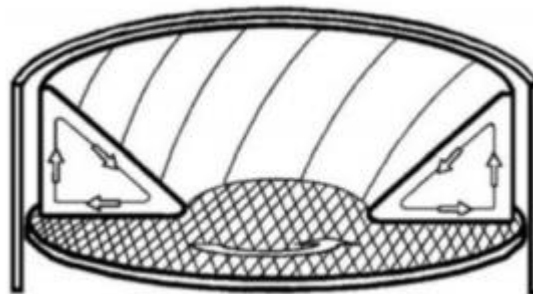
Ena izmed starejših oblik peletiranja, ki so jo začeli razvijati že v obdobju po 1960, je kombinacija iztiskanja in krogličenja (2). V farmacevtski industriji se uporablja za izdelavo gladkih, gostih, okroglih delcev s prirejenim ali takojšnjim sproščanjem. Tehnologija omogoča izdelavo delcev z velikim deležem zdravilne učinkovine in manjšim deležem pomožnih snovi (2). Prvi korak izdelave iztiskancev je **suho mešanje prahov**, za kar se lahko uporabi katerakoli tehnologija mešanja, ki zagotavlja homogenost končne zmesi (1,2). Sledi **aglomeracija**, kjer suhim prahom dodajamo tekočino do točke, ko masa izkazuje dovoljšno plastičnost, ki omogoča ekstruzijo oz. iztiskanje. Pogosto uporabljamo planetarni mešalnik in visoko strižni mešalnik. Slabost slednjega je, da v mokro zmes vnese veliko energije, ki se pretvarja v toploto in posledično povzroča hitrejšo izparevanje topila. Zmanjšanje topila lahko vodi do spremenjenih fizikalnih lastnosti mokre zmesi, ki niso primerne za iztiskanje (4). To se preprečuje z ohlajanjem posode mešalnika. Največkrat je za prvi dve fazi uporabljamo isto opremo (2).

Iztiskanje oz. ekstruzija je tehnika, kjer z aplicirano silo potiskamo mokro zmes skozi luknjičasto matrico, ki s svojo velikostjo direktno določajo premer iztiskancev in je ključnega pomena za pridobitev pelet željenih velikosti (1). Dolžina iztiskancev je odvisna od dimenzij opreme in samih fizikalnih lastnosti zmesi ter ni ključnega pomena za lastnosti končnih pelet. Po SUPAC klasifikaciji (angl. - »Scale-up and post-approval changes«, priročnik Ameriške agencije za hrano in zdravila) ekstrudorje delimo v vijačne radialne, vijačne aksialne, batne, gravitacijske rotacijske, gravitacijske z zobniki in gravitacijske radialne (Slika 1) (5).



Slika 1: Shematski prikaz različnih tipov ekstrudorja. Zgoraj: vijačni aksialni, vijačni radialni, batni ekstrudor. Spodaj: gravitacijski rotacijski, gravitacijski z zobniki, gravitacijski radialni (6)

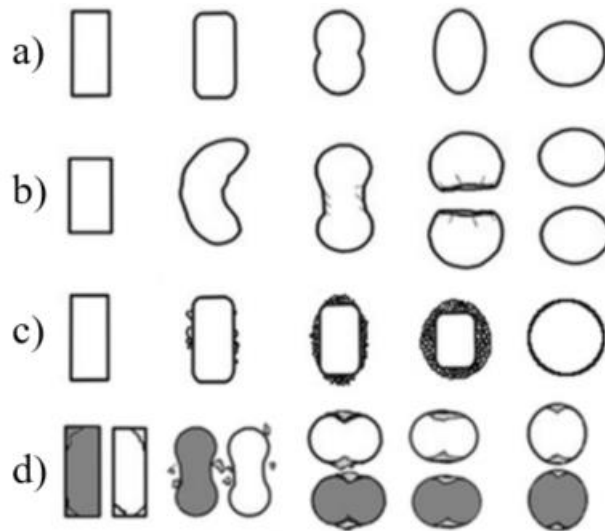
Iztiskance pretvorimo v pelete s **krogličanjem**. Iztiskanci padejo na hitro vrtečo se ploščo, katere groba površina omogoča visoke sile trenja. Tu se prelomijo v manjše valje zaradi trenja med vrtečo se ploščo in stacionarno steno, kamor jih potiska centrifugalna sila. Centrifugalna sila v kombinaciji s stacionarno steno ter drugimi delci potiska novo nastale delce navzgor, kjer prevlada gravitacijska sila, ki jih vrača v središče vrteče se plošče in postopek se ponovi(1,2,7) kot prikazuje Slika 2.



Slika 2: Shematski prikaz kroženja materiala med krogličanjem (8)

Predlaganih je več modelov, ki razlagajo nastanek delcev iz iztiskancev ter pojasnjujejo njihove končne oblike. Model po Rowe-u (a, Slika 3) razlaga nastanek pelet iz kratkih valjev, ki nastanejo pri lomljenju iztiskancev, ki se plastično deformirajo v kroglice z vmesnimi fazami, kot sta oblika dvojčkov in elipsoidna oblika. Po tem modelu končno velikost pelet (pred sušenjem) direktno določa masa prvotnih valjev. Model je kasneje razširil Baert (b, Slika 3), ki razlaga, kako se lahko oblika dvojčkov zaradi torzijske sile prelomi. Ta pojav ni pogost, kadar pa je prisoten, pa lahko vodi v bimodalno distribucijo, saj ne razpadejo vse pelete po opisanem principu. Oba modela temeljita na plastični deformaciji, ki jo je dopolnil Liew, čigar model (c,

Slika 3) razlaga nastanek pelet z vključevanjem prašnih delcev v večje. Model je kasneje dodatno razvil Koester, ki je z eksperimenti ugotovil, da 20 – 50% mase pelete izhaja iz vključevanja prašnih delcev v večje in dodatno ugotovil, da do tega prihaja na specifičnih mestih (d, Slika 3) (4,8).



Slika 3: Mehaničen nastanek pelet po Rowe-u (a), Beart-u (b), Liew-u (c) in Koesterju (d). Nastanek pelet je časovno prikazan iz leve proti desni (8)

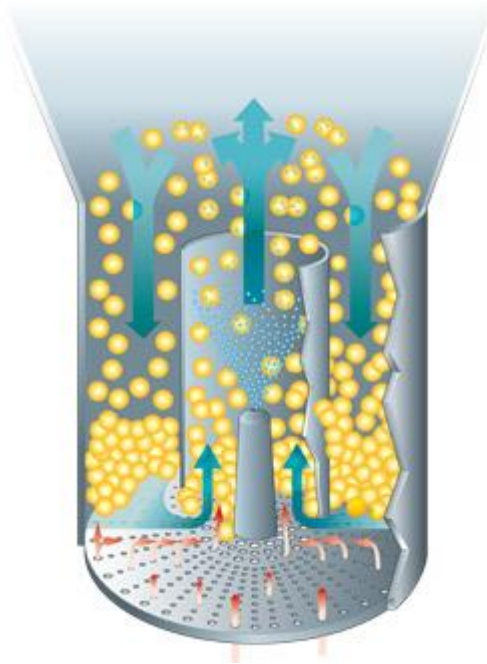
Ker kroglični delci vsebujejo velik delež vlage, jih je potrebno **sušiti**. Sušimo jih lahko na sobni temperaturi, pri nižani ali povišani temperaturi na pladnju ali v vrtnično slojnim sušilniku. Sušenje pri nižani temperaturi je ohranja prvotno velikost in obliko delcev, medtem ko se peletam sušenim pri zvišani temperaturi na pladnju, zaradi neenakomernega krčenja naguba površina (2).

Za zožanje distribucije velikosti delcev se v zadnjem koraku pelete **presejejo**, kar je še posebej ključnega pomena pri oblaganju, ki omogoča prirejeno sproščanje.

1.1.2 Tehnologije oblaganja

Peletna jedra bodisi inertna bodisi z vgrajeno zdravilno učinkovino največkrat oblagamo. Obloge lahko služijo fizični zaščiti jeter (naprimer pred vlago, svetlobo, oksidacijo), z njimi naneseemo zdravilno učinkovino ali pa jih obložimo za doseganje časovno ali prostorsko pogojenega sproščanja (3,9). Oblagamo lahko s suhimi prahovi ali z raztopino oz. suspenzijo. Pri slednjih dveh so komponente obloge raztopljene/suspendirane v topilu, ki je lahko voda, organsko topilo ali kombinacija obojega. Formulacija oblagalnega medija mora imeti tarčno viskoznost za tvorbo primernih kapljic. Kapljice se nabirajo na delcih, kjer se enakomerno

porazdelijo, nakar medij hlapi in tako v zaporednih plasteh tvori oblogo željene debeline. V preteklosti so za oblaganje uporabljali oblagalne bobne, ki pa jih zaradi velikih energetske porab, nizkega izkoristka, zahtevnosti in dolgotrajnega procesa, zamenjujejo vrtnično slojni oblagalniki, vrsto katerega opredeljuje pozicija šobe. Kadar je šoba na perforiranem dnu govorimo o komori z razprševanjem od spodaj (angl. »bottom spray«) vrtnično slojnem oblaganju oziroma Wurster tehnologiji. Navzgor usmerjena šoba je obdana z votlim valjem (Slika 4), skozi katerega skozi meglico razpršenega medija pelete potujejo navzgor, kjer jih tok zraka posuši in potiska ob rob posode. Tam nad delci prevlada gravitacijska sila, ki jih vrne na dno in proti sredini, kjer se cikl za delec ponovi. Perforirano dno je zasnovano tako, da lahko zrak dosega različno hitrost, z najvišjo hitrostjo na sredini, ki potiska delce skozi valj. Razlika v hitrosti zraka na dnu ustvarja podtlak, ki delce na zunanji strani posode vleče proti sredini in v valj. Glavna slabost tehnologije je nedostopnost šobe med procesom (npr. v primeru zamašitve). Ta tehnologija je največkrat uporabljena, kadar želimo nanesti manjšo količino obloge. Druge možne pozicije šobe sta z razprševanjem od zgoraj (angl. »top spray«) ali z razprševanjem s strani (angl. »tangial spray«), kjer sta izvedbi procesa drugačni, zaradi česar sta ti dve komori primernejši za oblaganje s prahovi(1,2,7).



Slika 4: Shema gibanja delcev pri oblaganju z Wurster tehnologijo (10)

1.2 Vrednotenje delcev

1.2.1 Parametri velikosti

Velikost delcev, ki so popolne krogle, definiramo s premerom. Velikost delcev nepravilnih oblik pa izražamo z različnimi parametri velikosti. Določene metode merjenja velikosti delcev zaradi samega načina delovanja omogočajo podajanje rezultatov le z enim parametrom, medtem ko druge omogočajo podajanja rezultatov v različnih oblikah. Rezultate velikosti podajamo zmeraj skupaj s parametrom velikosti in načinom obtežitve distribucije saj se lahko vrednosti med seboj bistveno razlikujejo. Velikost iz dvodimenzionalne slike delca najpogosteje opišemo s sledečimi parametri velikosti:

Ferretov premer je razdalja med navideznima vzporednima črtama tangent na poljubno orientiranem delcu. Lahko ga podajamo kot povprečje razdalj pridobljenih v določenih stopinjskih korakih ali pa kot minimalno ($F_{e_{min}}$) ali maksimalno ($F_{e_{max}}$) izmerjeno razdaljo. Maksimalni Ferretov diameter imenujemo tudi dolžina, minimalnega pa širina delca (11–13).

Martinov premer je premer, ki poljubno orientiran delec razdeli na dva dela z enako površino. Za statistično značilnost so meritve opravljene zmeraj v isti smeri, ne glede na orientacijo (11,12).

Premer kroga ekvivalentne površine (X_{area}) je premer, ki bi ga imel krog z isto površino kot projekcija delca (11,14).

Tetiva delca (angl. »chord length«) je minimalna ($T_{e_{min}}$) ali maksimalna razdalja med dvema točkama na robu delca izmed množice največjih razdalj izmerjenih v določenih stopinjskih korakih (11,12).

Drugi znani parametri velikosti so premer padajočega delca, premer krogle istega upora, Stokes-ov premer, premer krogle istega razmerja površine in volumna in premer kroga ekvivalentnega obsega (3). Nobenega izmed parametrov velikosti ne moremo označiti kot idealnega, ampak optimalnega izberemo tako, da dobimo kakovostne rezultate, ki so v skladu z namenom uporabe (12).

1.2.2 Porazdelitev velikosti delcev

Skupino delcev, ki so enako veliki in enake oblike lahko opišemo enoznačno. Ko pa so v vzorcu delci različnih velikosti, jih v nekem območju opiše porazdelitev velikosti (angl. »particle size

distribution«). Število delcev neke velikosti lahko prikažemo kot delež, ki ga k celoti prispevajo delci take velikosti, diferencialni prikaz, ali kumulativno, kjer te deleže seštejemo in pokažemo, kakšen delež delcev je večjih (angl. »oversize«) ali manjših (angl. »undersize«) od dane vrednosti. Kumulativno frekvenco označujemo s Q (Enačba 1), diferencialno frekvenco pa označujemo s p (Enačba 2). Frekvenca je nedimenzijska in so njene vrednosti med 0 in 1 oziroma med 0 in 100%.

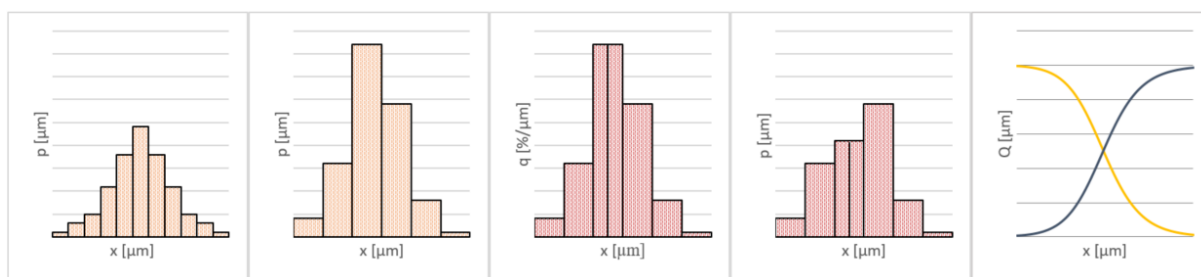
$$Q(x) = \frac{\text{Delci} \leq x}{\text{Vsi delci}} \quad \text{Enačba 1}$$

$$p(x) = \frac{\text{Delci} = x}{\text{Vsi delci}} \quad \text{Enačba 2}$$

Določene metode ne omogočajo meritve posameznih delcev, ampak povedo samo delež delcev, ki se nahajajo med dvema definiranimi velikostnima razredoma. Ožji kot so razredi bolj so razvidne manjše razlike med delci. Ker je frekvenčni prikaz odvisen od velikosti razreda so distribucije medsebojno primerljive le, kadar so velikostni razredi enaki. Da se izognemo tej omejitvi lahko namesto frekvence uporabimo gostoto z oznako q , ki je definirana kot odvod frekvence po velikosti (Enačba 3) ali njen približek končnih velikostni intervalov (Enačba 4) in ima enoto 1/parameter (v našem primeru velikost). Manjši kot so razredi, bolj se Enačba 4 približa Enačba 3. Vpliv velikostnih razredov, prednost gostote, diferencialni in kumulativni prikaz so podani na Sliki 5.

$$q(x) = \frac{Q(x)}{dx} \quad \text{Enačba 3}$$

$$q(x) = \frac{Q(x_2) - Q(x_1)}{x_2 - x_1} \quad \text{Enačba 4}$$



Slika 5: Shematski prikaz vpliva širine razredov na obliko histograma (prvi in drugi graf); Prikaz vpliva na obliko histograma, če razdelimo tretji razred drugega grafa na pol na gostotni prikaz (tretji graf) in frekvenčni prikaz (četrti graf); Primer undersize (modro) in oversize (rumeno) kumulativnega prikaza distribucije. Povzeto po (12).

Odstopanja velikosti delcev lahko razberemo iz širine distribucije. Ožja kot je manjša so ta odstopanja. Kadar 90 % delcev leži znotraj ± 5 % mediane, lahko govorimo o monomodalni distribuciji. V nasprotnem primeru gre za polidisperzni sistem. Širino distribucije opisujemo z razmerjem devetdesetega (D90) in desetega (D10) percentila (velikost, od katere je manjših 90 % oziroma 10 % vseh delcev). Definicija širine je prikazana v Preglednici I (12).

Preglednica I: Definicija širine distribucije glede na razmerje 90. in 10 percentila (12)

Širina distribucije	Razmerje D90 in D10 (D90/D10)
Monomodalna distribucija	<1,02
Zelo ozka	1,02 – 1,05
Ozka	1,05 – 1,5
Srednja	1,5 – 4
Široka	4 – 10
Zelo široka	>10

1.2.3 Lastnosti porazdelitvene krivulje

Porazdelitev velikosti delcev se redko prilegajo Gaussovi normalni porazdelitvi, zato jih težko opišemo s posameznimi parametri. Kljub temu lahko vsako monomodalno distribucijo opišemo računsko s sledečimi parametri:

- **Povprečje** je vrednost, ki je v dani distribuciji najbolj verjetna. Opisuje jo Enačba 5 (15,16).

$$\mu = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i \quad \text{Enačba 5}$$

- **Percentil** je velikost delca, ki nam pri danem deležu pove, koliko delcev je večjih in koliko delcev je manjših od dane vrednosti. V primeru porazdelitve velikosti delcev ga označujemo z D, ki mu sledi delež v procentih ali z malo črko d, ki mu sledi delež (naprimer D90 in d0.9 je velikost, od katere je 90% vseh delcev manjših in analogno 10% večjih) (15,16).
- **Mediana** je vrednost, ki številčno razdeli dano distribucijo na dva enaka dela. Je enaka vrednosti 50. (d0.5 oziroma D50) percentila (15,16).
- **Modus** je vrednost, ki jo ima največ posameznih delcev v distribuciji oziroma velikost delcev, ki imajo v distribuciji največjo frekvenco pojavnosti (15,16).

- **Standardni odmik** služi kot ocena merilne negotovosti in ima enako enoto kot zgoraj omenjene opisne vrednosti velikosti (Enačba 6)(15,16).

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^2}{N}} \quad \text{Enačba 6}$$

- **Nesimetričnost** nam pove ali je porazdelitvena krivulja nagnjena v levo proti večjemu deležu manjših delcev ali v desno proti večjemu deležu večjih delcev. Opisuje jo γ_1 , ki je lahko pozitivna – nagib v levo ali negativna – nagib v desno. S pomočjo kritične z-vrednosti lahko izračunamo ali je nagib statistično značilen (Enačba 7)(15,16).

$$\gamma_1 = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^3}{(N-1)\sigma^3} \quad \text{Enačba 7}$$

- **Sploščenost** (angl. »kurtosis«) nam pove ali je krivulja porazdelitve bolj sploščena ali bolj koničasta. Za normalno Gaussovo porazdelitveno krivuljo je vrednost sploščenosti enaka tri. Vrednosti manjše od tri pomenijo, da je distribucija bolj ploščata od Gaussove, večje od tri, da je bolj koničasta. Alternativni prikaz sploščenosti je, da vrednosti odštejemo število tri. Tako zgornji opisi veljajo za pozitivne in negativne vrednosti (Enačba 8)(15,16).

$$\text{sploščenost} = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^4}{(N-1)\sigma^4} [-3] \quad \text{Enačba 8}$$

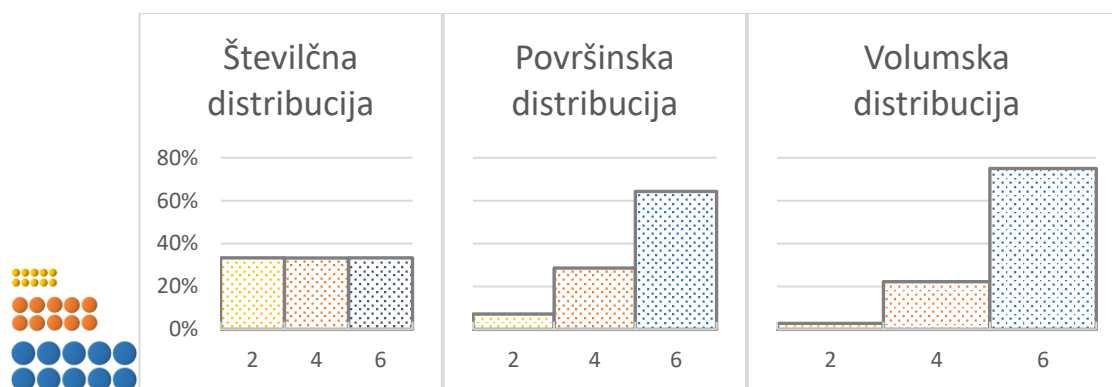
N - število meritev, x_i posamezna meritev

1.2.4 Številčno, površinsko in volumsko obtežena porazdelitev

Velikostno distribucijo delcev in njene parametre lahko izražamo z različnimi obtežitvami distribucij. Če kot frekvenco pojavnosti uporabljamo število delcev, govorimo o številčni distribuciji. V tem primeru nam D50 pove velikost od katere je enako število delcev levo in enako število delcev desno. V primeru površinsko obtežene distribucije nam D50 pove velikost delca, od katerega površina delcev v levo in polovica v desno prispevata enak delež k celokupni površini. Analogno volumsko obteženi D50 pove velikost delca od katerega volumen delcev v levo in v desno prispevata enak delež k celotnemu volumnu.

Določene metode merjenja zaradi samega načina delovanja omogočajo podajanje rezultatov le v eni, medtem ko druge omogočajo podajanje rezultatov v različnih oblikah porazdelitve. Pretvorba različno obteženih distribucij je možna v obe smeri vendar ni zaželeno, saj relativna napaka na delež pri pretvorbi ostane enaka, medtem ko je absolutna vrednost frakcije bistveno drugačna (12).

Vsaka obtežitev ima svoje prednosti in slabosti ter služi svojemu namenu. Če neki velikostni distribuciji delcev povečamo število majhnih delcev bo ta sprememba dobro razvidna v številčni porazdelitvi in skoraj neopazna v volumski. Na Sliki 6 so prikazane razlike med različnimi distribucijami istega modelnega vzorca. V farmaciji se v glavnem uporablja volumska porazdelitev. Eden izmed razlogov je zgodovinski in prihaja iz sejalne analize. Tam je porazdelitev masna vendar maso in volumen povezuje gostota in sta zato enaki. Podobno kot pri izbiri parametra velikosti je tudi tukaj optimalen prikaz distribucije odvisen od namena uporabe (16).



Slika 6: Različno obtežene distribucije 30 delcev po 10 delcev z velikostjo 2 µm, 4 µm in 6 µm (grafični prikaz delcev na levi)

1.2.5 Parametri oblike

Določene metode merjenja velikosti delcev omogočajo tudi merjenje oblike delcev. Najpogostejši in najenostavnejši parametri velikosti so:

- **Podolgovatost** (angl. »Aspect ratio«). Gre za razmerje med širino in dolžino delca. Kateri parameter velikosti predstavlja širino in kateri dolžino, je največkrat odvisno od proizvajalca merilne naprave. V nekaterih primerih sta izbrani dolžini pod pravim kotom v drugih nista. Zato je potrebno dobro poznati definicijo po kateri naprava izračuna razmerje, kadar jih želimo med seboj primerjati. Za popolno okrogel delec je vrednost ena, za podolgovate delce pa manjša od ena (11,12).
- **Okroglost** gre za razmerje kvadrata obsega kroga z enako površino kot izmerjenega delca in kvadratom dejanskega izmerjenega obsega. Vrednost nam pove kako oglat je delec. Podobno kot za podolgovatost obstaja več definicij, ki se razlikujejo od proizvajalca merilne opreme (Enačba 9) (11,12).

$$\text{okroglost} = \frac{4\pi A}{P^2} \quad \text{Enačba 9}$$

A – površina projekcije, P – obseg projekcije

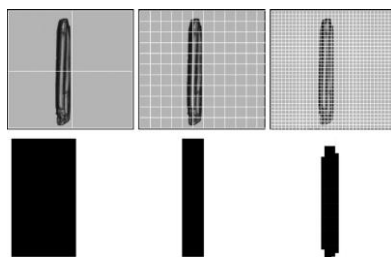
- **Konveksnost** je razmerje med projicirano površino in površino popolno konveksnega delca iste oblike (površina delca, ki bi ga opisovala elastika na delcu) .Vrednosti se gibljejo med 0 in 1. Popolnoma konveksni delci imajo razmerje 1 (Enačba 10)(8).

$$Konveksnost = \sqrt{\frac{A_{prava}}{A_{konveksnega\ delca}}} \quad \text{Enačba 10}$$

Obstajajo še drugi parametri oblike (naprimer faktor oblike e_R in radialni faktor oblike $\phi_{radialni}$ (17)), ki so po navadi izpeljanke različnih parametrov velikosti in geometrijske obdelave projekcij delca. Za opis delcev, ki jih bomo uporabili v magistrski nalogi so dovolj zgoraj omenjeni zato drugih v sklopu magistrske naloge ne bomo obravnavali.

1.3 Slikovna analiza

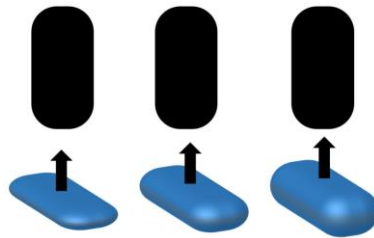
V širšem pomenu slikovna analiza pomeni analiza kakršnekoli slike, v našem primeru pa analizo delcev na sliki. Metode slikovne analize so zgodovinsko pomembne in njihov začetek sega vse nazaj do prvih mikroskopov. Za vsako slikovno analizo potrebujemo povečavo, ki z večanjem zvišuje ločljivost in s tem možnost analize manjših delcev, vir svetlobe in senzor za zajem slike. Ločljivost v luči slikovne analize pomeni število slikovnih točk, v katerih je zajet delec. Število neposredno vpliva na zmožnost ločevanja slikovnih točk, ki delec zajamejo in okoliških slikovnih točk (Slika 7) ter s tem določa minimalno velikost delcev, ki jih sistem lahko zazna.



Slika 7: Prikaz vpliva resolucije na obliko delca, ki jo zajema senzor (18)

Prva metoda slikovne analize je bila analiza z mikroskopom, ki je subjektivna, odvisna od izkušenosti analitika in kalibracije. Ker je analiza počasna se največkrat analizira le del vzorca. Če bi bili vsi delci v vzorcu enaki (monodisperzni vzorec), bi že analiza enega delca povzela lastnosti celotnega vzorca. S širjenjem velikostne distribucije se večja potreba po številu

analiziranih delcev za doseganje enake statistične moči. Zaradi tega je meritev močno odvisna od reprezentativnosti vzorca. Naslednji ključni element slikovne analize je orientacija delcev, ker tridimenzionalno telo analiziramo v dvodimenzionalnem prostoru. Zato je vsak rezultat slikovne analize le približek prave velikosti. Pri mikroskopiji so delci na ravni podlagi poravnani tako, da imajo najnižjo mehansko energijo in posledično največjo površino projekcije (Slika 9), kar zmanjšuje statistično moč analize. Takšne vrste meritev imenujemo statična slikovna analiza.



Slika 8: Grafični prikaz delcev z različno višino v orientaciji z najnižjo mehansko energijo in vpliv na projekcijo.

Vse omenjene pomanjkljivosti so se z razvojem računalniških sistemov bistveno izboljšale. Danes lahko programska oprema objektivno obdelava bistveno večje število delcev in tako občutno zmanjša napako metode. Novejše naprave temeljijo na meritvah delcev v gibanju, kar pomeni, da je delec ob meritvi naključno orientiran, kar bistveno poveča statistično moč analize. Prednost delcev v gibanju je tudi dobra ločljivost med delci in, po potrebi, možnost razbitja aglomeratov. Takšno vrsto slikovne analize imenujemo dinamična slikovna analiza. V novejših napravah sta možni dve vrsti osvetlitve. V prvi delci padajo med virom svetlobe in senzorjem ter tako zajemamo slike sence delca na svetlem ozadju. Prednost take osvetlitve so ostri robovi projekcije delcev, kar olajša in s tem pohitri digitalno obdelavo podatkov. Pri drugi vrsti osvetlitve je vir svetlobe nameščen na isti strani kot senzor in tako zajema dejansko sliko delca na temnejšem ozadju. Tak način je v glavnem v uporabi pri »on-line« analiznih metodah, kjer drugačna namestitve vira svetlobe ni možna. Za ostrost slike delcev je frekvenca vira svetlobe sinhronizirana s hitrostjo zajema slik. Glavna prednost slikovne analize je, da omogoča kvantificiranje ne le velikosti delcev, temveč tudi drugih fizikalnih lastnosti, kot naprimer oblike (12,18).

1.4 Reprezentativnost vzorca

Kadar analiziramo vzorec pričakujemo, da je kvaliteta vzorca enaka kvaliteti celotnega materiala, ki je največkrat količinsko veliko večji. Ta predpostavka velja le ob popolnem

vzorčenju, zato njeno resničnost ocenjujemo z reprezentativnostjo vzorca. Reprezentativnost lahko bistveno izboljšamo z upoštevanjem dobre vzorčevalne prakse. **Primarno vzorčenje** poteka med procesom izdelave ali iz shranjenega materiala in predstavlja največje zmanjšanje mase med izhodnim materialom in končnim vzorcem. Pravilna tehnika je odvisna od lastnosti materiala kot je homogenost, pretočnost, oblika delcev, krušljivost, itd. Dobro vzorčevalno prakso bomo opisali naprimeru vzorčenja pelet med oblaganjem, kjer so pelete v konstantem gibanju, vzorčenje pa poteka s pomočjo lopute za vzorčenje, ki je nameščena na procesni posodi vrtnično slojnega oblagalnika. Da dobimo reprezentativen vzorec v neki časovni točki procesa, moramo vzorčiti v korakih in nato manjše vzorce združimo v enega skupnega. Zajem vzorca v določeni časovni točki procesa tako razširimo v vzorčenje, ki poteka minuto. V tej minuti v različnih korakih zberemo manjše vzorce, pri korakih pa lahko variiramo dolžino koraka (posledično maso) in časovni interval korakov. Lahko so popolnoma naključni, sistematični (naprimer točno določena dolžina vzorčenja in njeni intervali) in naključno stratificirani (naprimer kjer v fiksnem časovnem intervalu variiramo dolžino vzorčenja). Davies R. s sodelavci (12) je pokazal, da največjo reprezentativnost daje sistematično vzorčenje, nekoliko slabše je stratificirano in kot najslabša izmed treh je naključno vzorčenje. Izkazalo se je tudi, da kratko vzorčenje (majhen vzorec) s kratkimi časovnimi intervali (pogosto vzorčenje) daje najboljše rezultate.

Primarni vzorec je največkrat prevelik za želeno analizo zato sledi **sekundarno vzorčenje**, ki poteka na laboratorijskem nivoju. Najpogostejši načini zmanjševanja mase so enostavne tehnike, kot sta vzorčenje s spatulo in deljenje na četrtine, ter naprednejši, kjer uporabimo za to namenjene naprave, kot sta vrteči kanalni razdelilnik (angl. »rotational splitter«) in kanalni razdelilnik (angl »riffle splitter«) (19,20). Izbira pravega je odvisna od lastnosti materiala in jih lahko uporabljamo v kombinaciji (21).

Med analizo lahko pride tudi do **terciarnega vzorčenja**, ko se analizira le del celotnega sekundarnega vzorca. Na tega lahko vplivamo le z nastavitvami same merilne naprave (12).

2 NAMEN

Namen magistrske naloge je oceniti primernost dinamične slikovne analize za določanje prirasta debeline filmske obloge pelet.

V prvem sklopu bomo ovrednotili vpliv sekundarnega vzorčenja na razpršenost rezultatov dinamične slikovne analize. Kot primarno tehniko sekundarnega vzorčenja bomo uporabili kanalni razdelilnik, s katerim bomo tudi pripravili vzorce za vrednotenje vpliva velikosti vzorca. Rezultate bomo primerjali z drugimi tehnikami sekundarnega vzorčenja kot so zajem s spatulo po 6 mesečnem shranjevanju vzorca in po mešanju v polietilenski vreči ter z deljenjem na četrtine.

Z optimalnim načinom priprave vzorca bomo z dinamično slikovno analizo izmerili velikosti pelet, pridobljenih s tehnologijo izstiskanja in krogliččenja ter obloženih v vrtinčno slojnim oblagalniku na proizvodnem nivoju. Vzorce bomo vzorčili v različnih točkah filmskega oblaganja, torej pri različnih debelinah obloge, glede na masni nanos obloge. Razvili bomo metodologijo za posredno določanje debeline obloge.

Za primerjavo metode dinamične slikovne analize bomo izbrane vzorce analizirali in primerjali še z drugimi metodami za določanje velikosti delcev, kot so statična slikovna analiza, vrstični elektronski mikroskop, laserska difraktometrija in sejalna analiza ter določili primerljivost parametrov velikosti med metodami.

Spremljali bomo tudi vpliv parametrov oblike (razmerje širine in dolžine, okroglost, konveksnost) na razlike v parametrih velikosti določenih s slikovno analizo (Ferretov premer, premer najmanjše tetive, Martinov premer, ekvivalentni premer krogle).

Naša delovna hipoteza je, da lahko z dinamično slikovno analizo zanesljivo določimo velikosti pelet in s tem posredno debelino filmske obloge.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 Materiali

3.1.1 Vrednotenje tehnik sekundarnega vzorčenja

Za vrednotenje tehnik sekundarnega vzorčenja smo uporabili peletna jedra pridobljena s tehnologijo iztiskanja in krogličnja na proizvodnjem nivoju. Peletna jedra so bila presejana za odstranitev prevelikih (sito 1,25 mm) in premajhnih delcev (sito 0,7 mm). Takšna uporabna frakcija pelet, je bila vzorčena z vevnico v eni točki in shranjena.

3.1.2 Pelete uporabljene za oceno merjenja debeline obloge

Peletna jedra so bila pridobljena s tehnologijo iztiskanja in krogličnja na proizvodnem nivoju. Jedra so bila nato obložena s filmsko oblogo in posušena v vrtinčnoslojnjem oblagalniku. Jedra in obložene pelete so bile na koncu vsake stopnje procesa presejane skozi siti 1,4 mm in 0,7 mm. Med oblaganjem so bili odvzeti vzorci pri različnem masnem deležu nanešene obloge glede na maso vstopnega materiala, kot prikazuje Enačba 11

$$x = \frac{m_{\text{nanešene obloge}}}{m_{\text{vstopnega materiala}}} \quad \text{Enačba 11}$$

Končne filmsko obložene pelete so bile vzorčene le po sejanju, zato so podatki zvezni med vstopnim materialom in zadnjim vzorcem med oblaganjem, kot prikazano v Preglednici II.

Preglednica II: Pregled vzorcev jeder in pelet z različnim masnim nanosom filmske obloge. * Dvojni XX nadomesti količina nanešene obloge (npr. FOP-05 je vzorec pelet z masnim nanosom 5%).

Eksperiment	Oznaka vzorcev	Vzorci vzorčeni po sejanju v mirovanju	Vzorci vzorčeni med procesom pri masnem nanosu [%]	Maksimalni masni nanos [%]
FOP1	FOP1-XX*	0 (Jedra)	2, 3, 4	5
FOP2	FOP2-XX*	0 (Jedra)	3, 4, 5, 6, 7, 8, 9,	10
FOP3	FOP-XX*	0 (Jedra)	3, 4, 5, 6, 7	8

3.1.3 Steklene kroglice pravilne oblike

Steklene kroglice proizvajalca Whitehouse Scientific v velikostnem območju 170 – 710 μm bodo služile kot standard za vrednotenje ponovljivosti dinamične slikovne analize, za vrednotenje vpliva oblike delcev na razpršenost in absolutne vrednosti različnih parametrov

velikosti. Kroglice lahko služijo tudi kalibraciji z zunanjim standardom zato proizvajalec zagotavlja njihovo deklarirano velikostno območje in obliko skoraj popolne krogle.

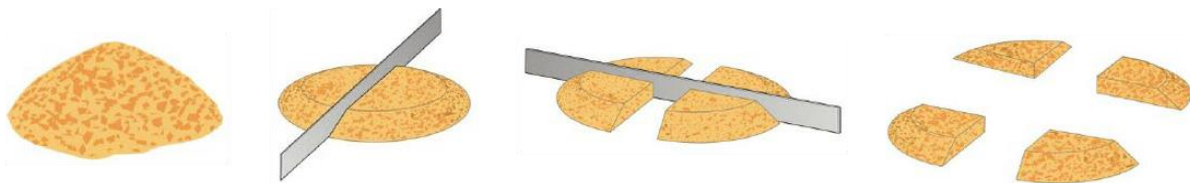
3.2 Metode

3.2.1 Vrednotenje tehnik sekundarnega vzorčenja

Začetni vzorec je predstavljal material mase ~2 kg in je bil s kanalnim razdelilnikom razdeljen prvič do dveh enakih vzorcev z oznakama M1 in M2. Sledila je ponovitev razdelitve obeh vzorcev do nastanka štirih pol kilogramskih vzorcev z oznakami Q1 - Q4. Ti so bili osnova za nadaljnje vrednotenje tehnik deljenja. Za deljenje začetnega materiala je bil izbran kanalni razdelilnik na podlagi literaturnih podatkov, ki kažejo na najnižjo stopnjo napake izmed tehnik, ki smo jih imeli na voljo (19,20).

3.2.1.1 Deljenje na četrtine

Izhodni vzorec pelet Q1 (~0,5 kg) smo vsuli na ravno površino tako, da smo dobili čim ožji stožec, ki smo mu s kartico sploščili vrh. S plastično kartico smo stožec razdelili najprej navpično na dva enaka dela in nato še vodoravno, kot prikazuje Slika 9. Dve diagonalni četrtini smo združili in celoten postopek ponavljali do vzorca zelene mase (11). Pripravili smo serijo šestih vzorcev z oznako DNČ10 in maso ~10 g.



Slika 9: Shematski prikaz sekundarnega vzorčenja z deljenjem na četrtine. Od leve proti desni: sploščen stožec, delitev navpično, delitev vodoravno, vzorec razdeljen na četrtine

3.2.1.2 Vzorčenje s spatulo

Izhodni vzorec pelet Q2 (~0,5 kg) v poletilenski vreči smo previdno odprli po shranjevanju približno 6 mesecev. S spatulo smo po vrhu odvzeli 6 vzorcev z maso ~10 g in jih označili s SPZV (spatula z vrha). Prvi in zadnji vzorec sta bila odvzeta na sredini, preostali v smeri urinega kazalca na robu. PE vrečo smo nato zaprli tako, da je bilo nad vzorcem ujetega zraka za približno polovico prostornine vzorca. Vrečo smo temeljito mešali eno minuto in na isti način

ponovili vzorčenje z vrha. Ponovno smo vzeli 6 vzorcev z maso ~10 g in jih označili s SPM (spatula po mešanju).

3.2.1.3 Zmanjševanje mase s kanalni delilnikom

Kanalni razdelilnik omogoča enostavno, ponovljivo in poceni zmanjševanje mase vzorca. Sestavni deli kanalnega delilnika so tri posodice in delilnik. Posodice so enakih dimenzij, njihova vloga pa se izmenjuje med dozirno in lovilno posodico. Delilnik je sestavljen iz zgornje kvadratne odprtine v katero doziramo vzorec in kanalov, ki izmenično vodijo delce v dve zbirni posodici. Vzorec se dozira iz posamezne posodice tako, da vzorec pada po celotni dolžini odprtine na zgornji strani. Zbirna posodica postane dozirna in postopek se ponavlja do zelene mase vzorca. Za optimalne rezultate vlogo dozirne posodice prevzemata naključna lovilna posodica. Slika 10 prikazuje delovanje kanalnega razdelilnika. (19)



Slika 10: Skica kanalnega razdelilnika (12)

Dobra zasnova kanalnega razdelilnika se odraža v različnih lastnostih. Večje število kanalov vodi v boljšo razdelitev vzorca. Širina kanalov mora biti enakomerna in je omejena z velikostjo delcev vzorca, saj ne sme biti manjša od treh premerov delcev deljenega vzorca ali dveh premerov in dodatnih 5 mm. Za deljenje prahov širina manjša od 5 mm ni primerna. Takšna širina preprečuje zamašitev kanala. Širina sten med kanali mora biti zanemarljivo majhna v primerjavi z velikostjo kanalov. V obe lovilni posodici mora biti usmerjeno isto število kanalov. Širina kvadratne odprtine na vrhu razdelilnika mora biti enaka širini dozirne posodice oziroma snopu padajočega vzorca (19). Kanalni razdelilnik uporabljen za namene magistrske naloge slednji zahtevi ne zadostuje, saj je kvadratna odprtina manjša od širine dozirne posodice. Vsem ostalim omenjenim zahtevam ustreza.

Vzorci pelet za vrednotenje tehnik priprave vzorca in vzorci za vrednotenje velikosti vzorca so bili pripravljene s tehniko kanalnega razdelilnika. Oznake vzorcev, povprečna masa vzorca in število delitev so predstavljeni v Preglednici III.

Preglednica III: Pregled oznak in mase vzorcev pripravljenih s kanalnim razdelilnikom. * vzorci niso bili tehtani, masa je ocenjena na podlagi manjših vzorcev znane mase

Oznaka vzorca	Povprečna masa [g]	Število delitev
Začetni vzorec	~ 2000*	/
M1 do M2	~ 1000*	1
Q1 do Q4	~ 500*	2
X1 do X8	~ 250*	3
Y1 do Y8	~ 125*	4
Z1 do Z16	~ 63*	5
A1 do A16	~ 31*	6
B1 do BX16	~ 15*	7
C1 do CX16	7,848	8
D1 do DX16	4,036	9
E1 do EX16	2,030	10
F1 do FX16	0,977	11
G1 do GX16	0,508	12
H1 do HX16	0,260	13

3.2.2 Dinamična slikovna analiza

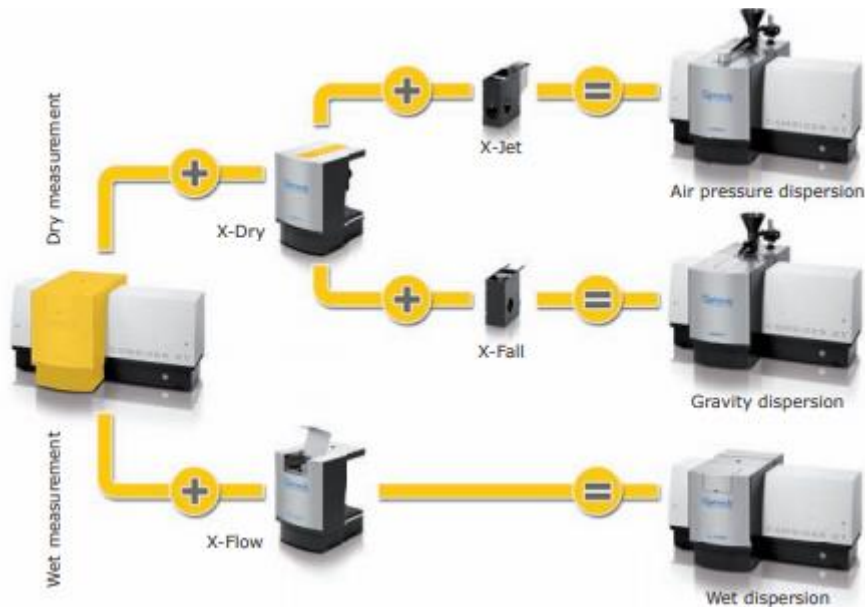
Dinamične slikovne analize smo opravili z napravo Camsizer XT podjetja Retsch Technology (v nadaljevanju Camsizer). Camsizer je sestavljen iz ohišja v katerem se nahajata navadna in t.i. »zoom« kamera s CCD tipaloma ter dve LED svetili (22). Na vrhu je vibracijska drča in dozirni lijak (23). Med kamerama in svetiloma je prostor za enega izmed treh modulov:

X-Fall modul je gravitacijska disperzijska enota, ki omogoča merjenje delcev velikosti med 10 µm in 3 mm. Vzorec pada iz vibracijske drče v lijak, ki delce s pomočjo gravitacije vodi pred kameri. Delci padajo v zbirno posodo na dnu in jih lahko po meritvi ponovno uporabimo. Za namene magistrske naloge smo uporabljali ta modul (23).

X-Jet modul je disperzijska enota, ki s pomočjo zračnega tlaka pritiska dispergira in prenaša delce, ki padejo iz vibracijske drče v lijak, pred kameri. Tlak lahko uravnavamo s pomočjo programske opreme in tako delce pospešimo do 50 metrov na sekundo. Za uporabo tega modula je potreben razvoj metode, kjer se ovrednoti tlak v različnih območjih, saj lahko višji tlaki

razbijejo aglomerate (zaželeno) in/ali poškodujejo (nezaželeno) delce. Vzorec gre po koncu meritve v sesalec in ga ne moremo ponovno uporabiti (23).

X-Wet modul je mokra disperzijska enota. Delce suspendiramo ali emulgiramo v topilu, ki kroži s pomočjo mešala v zaprtem sistemu od rezervoarja do kamer. Tega modula za namene magistrske naloge nismo uporabili (23).



Slika 11: Shematski prikaz Camsizer-ja in pripadajočih modulov (24)

Camsizer uporablja sistem dveh kamer. Ker delci padajo med kamerama in LED svetili, je Camsizer naprava dinamične slikovne analize, ki zaznava senco delcev. Navadna kamera ima območje zaznave delcev med 240 μm in 3 mm. Ena slikovna točka predstavlja velikost 10 μm . Zoom kamera ima veliko ožje območje zaznave med 30 μm in 1,25 mm. Ena slikovna točka tako predstavlja 1 μm . Fotografije se s pomočjo naprednih algoritmov pretvorijo v slike primerne za obdelavo, podobno kot smo to ročno opravili pri statični slikovni analizi (podrobnosti v poglavju 3.2.3). Med pretvorbo v binarno sliko se posamezna slikovna točka pri projekciji delca upošteva, kadar je vrednost slikovne točke vsaj polovična od popolnoma temne slikovne točke (25). Zaznava delca, ki ni v celoti na fotografiji, se pri meritvi ne upošteva pri meritvi. Kameri zajemata fotografije s hitrostjo najmanj 275 fotografij na sekundo, kar pomeni, da nastane več fotografij istega delca, ki je zaradi gibanja lahko različno orientiran. Tolikšno število zaznav delcev bistveno poveča statistično moč rezultatov. Hitrost zajema fotografij pa lahko v meritev vnese dodatno napako, kadar za meritve uporabljamo modul X-Jet, ker je hitrost delcev odvisna od njihove velikosti in oblike ter lahko tako ob prevelikem tlaku dosežemo, da

se večji delci pomerijo večkrat kot manjši, ki so hitrejši. Ta efekt je zanemarljiv pri večjih delcih, ki jih merimo v sklopu magistrske naloge (26).

Meritev se začne, ko je dosežena pokritosti merilnega območja najmanj 0,3 %. Pred tem drča vibrira po nastavitvah hitrega napredovanja (angl. »Fast forward«). Ko pa se meritev prične je moč vibracij uravnavana tako, da dosega nastavljeno vrednostjo pokritosti merilnega območja (11). V praksi to pomeni, da lahko ob previsokih nastavitvah hitrega napredovanja pade mimo merilnega območja tudi do 20 pelet pred začetkom meritve. Pri večjih vzorcih je ta količina zanemarljiva. Pri vrednotenju velikosti vzorca, kjer smo vrednotili tudi zelo majhne vzorce (do 200 mg), pelet pa smo morali optimizirati moč vibracij drče na začetku tako, da smo minimalizirali število nepomerjenih pelet. Premikanje pelet po drči pa smo uravnavali tudi ročno s čopičem s sintetičnimi vlakni.

V programski opremi je pred meritvijo potrebno označiti parametre velikosti. Za meritve debeline filmske obloge smo uporabili Ferretov minimalni in maksimalni premer, minimalno tetivo, Martinov premer in premer kroga ekvivalentne površine. Širino velikostnih razredov za prikaz distribucije smo nastavili na 10 μm v območju 10 μm do 3 mm. Vse ostale parametre oblike in velikosti lahko programska oprema naprave Camsizer izračuna tudi naknadno po opravljenih meritvah.

3.2.2.1 Metoda izračuna debeline filmske obloge z modelom

Za določanje debeline obloge bomo iz danih rezultatov meritev izračunali parametre umeritvene krivulje. Po vzoru raziskave P. Avalle s sodelavci (27) bo umeritveno krivuljo predstavljal model premice \hat{y} , ki jo definirata dva glavna parametra naklon b_1 in odsek na ordinatni osi b_0 , kot prikazuje Enačba 11 (15):

$$\hat{y}_j = b_0 + b_1 * x_j \quad \text{Enačba 12}$$

Za izračun naklona b_1 smo uporabili Enačbo 13 in s pomočjo izračunanega b_1 z Enačbo 14 še b_0 (15):

$$b_1 = \frac{\sum_{j=1}^k x_j y_j - \frac{1}{k} (\sum_{j=1}^k x_j) (\sum_{j=1}^k y_j)}{\sum_{j=1}^k x_j^2 - \frac{1}{k} (\sum_{j=1}^k x_j)^2} \quad \text{Enačba 13}$$

$$b_0 = \frac{1}{k} \left(b_1 \sum_{j=1}^k x_j - \sum_{j=1}^k y_j \right) \quad \text{Enačba 14}$$

k - število eksperimentalnih točk, j – posamezna meritev

Vrednosti modela \hat{y} in eksperimentalne vrednosti se zmeraj nekoliko razlikujejo. Zato linearnemu modelu izračunamo (15):

Standardni odmik ostankov:
$$s_e = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^{n_j} (y_j - \hat{y}_j)^2}{k - 2}}$$
 Enačba 15

Standardni odmik naklona b_1 , ki je potreben za izračun standardnega odmika odseka ordinatne osi s_{b_1} :
$$s_{b_1} = \frac{s_e}{\sqrt{\sum_{j=1}^k x_j^2 - \frac{1}{k} (\sum_{j=1}^k x_j)^2}}$$
 Enačba 16

Standardni odmik odseka ordinatne osi s_{b_0} :

Je pomemben pri izračunu napake velikosti izhodnih pelet oblaganje, ki ga bomo uporabili za izračun debeline.
$$s_{b_0} = s_{b_1} \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^k x_j^2}{k}}$$
 Enačba 17

Standardni odmik celotnega modela \hat{y} v poljubni točki x_0 :

$$s_{\hat{y}(x_0)} = s_e \sqrt{\frac{1}{k} + \frac{\left(x_0 - \frac{1}{k} \sum_{j=1}^k x_j\right)^2}{\sum_{j=1}^k x_j^2 - \frac{1}{k} (\sum_{j=1}^k x_j)^2}}$$
 Enačba 18

Omenjene standardne odmike smo izračunali, da lahko podajamo izračunane velikosti z intervalom zaupanja (15):

Velikost izhodne pelet:
$$b_1 \pm t_{(k-2, \alpha)} s_{b_1}$$
 Enačba 19

Velikost pelet v x_0 masnega nanosa:
$$b_1 \pm t_{(k-2, \alpha)} s_{\hat{y}(x_0)}$$
 Enačba 20

Končna enačba za izračun debeline filmske obloge H je polovica razlike velikosti oz, premera med končnimi in začetnim oz. vstopnimi peletami:

$$H = \frac{b_1 - y_{(x_0)}}{2} \pm \frac{1}{2} \left(t_{(k-2, \alpha)} s_{b_1} + t_{(k-2, \alpha)} s_{\hat{y}(x_0)} \right)$$
 Enačba 21

3.2.3 Statična slikovna analiza

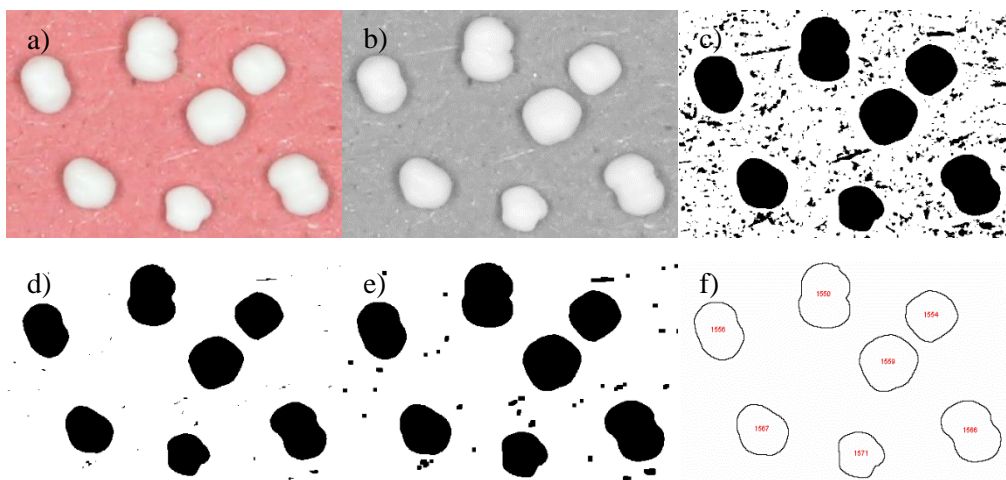
Statično slikovno analizo smo opravili s fotografiranjem pelet na temni podlagi. Za fotografiranje smo namestili fotoaparatus Cannon EOS 5D Mark III z objektivom Cannon Macro 100 mm na stojalo. Stojalo omogoča slikanje v navpični smeri in prilagajanje odmika od fotografske površine. Pri nastavljanju višine smo sklenili kompromis med dobro ločljivostjo robov pelet in veliko površino zajema pri višini 44,6 cm. Fotografije so tako zajele kvadrat z dimenzijami 11,01 cm in višino 7,34 cm. Ob fotoaparatu smo namestili dve fluorescenčni luči usmerjeni navpično proti površini slikanja, da so imele pelete enakomerno senco iz vseh strani, kar je olajšalo kasnejšo digitalno obdelavo fotografij. Za optimalne fotografije so se izkazale nastavitve na fotoaparatu z občutljivostjo senzorja ISO na 800, uravnavanjem beline pri 4400 K in zaslonko na f25.

Pelete smo za lažjo kasnejšo digitalno obdelavo poskusili razporediti po površini, ki jo je zajemal fotoaparatus, tako, da se med seboj ne bi dotikale. Na sredini na vrhu slike smo za skalo dodali kljunasto merilo nastavljeno na 3,00 mm, katere razdaljo smo s programsko opremo pretvorili v slikovne točke. Ker smo višino fotoaparatus ohranjali isto, se merilo med slikami se merilo ni spreminjalo in je znašalo 52,33 točk/mm.

Slike smo digitalno obdelali s programsko opremo ImageJ v večih korakih. Izvorno barvno fotografijo (Slika 12, podslika a) smo pretvorili v črno belo 8-bitno fotografijo (Slika 12, podslika b). Globino barve v digitalni fotografiji izražamo z bit-i. 1 bit ima lahko vrednosti 0 ali 1. 8 bitov imenujemo byte in ima 256 možnih vrednosti (2^8). 8 bitna globina fotografije pomeni, da ima vsaka posamezna slikovna točka vrednost med 0 (bela barva) in 255 (črna barva). Takšen zapis fotografije občutno zmanjša število informacij na sliki in olajša nadaljnjo obdelavo. V naslednjem koraku smo fotografijo spremenili v binarno fotografijo, kar pomeni, da se 256 različnih odtenkov črne in bele pretvori v le 2 – črno in belo. Za transformacijo smo uporabili metodo IsoData (27), za čim boljši zajem delca in za čim manj šuma se je izkazal prag za pretvorbo (angl. »threshold«) med 9 % in 10 % (Slika 12, podslika c).

Zaradi neidealne temne podlage je po pretvorbi na binarni sliki ostalo veliko šuma. Šum smo zmanjšali z binarnimi funkcijami. Kot prvo smo uporabili funkcijo Erode (razjedati – slo), ki odstrani 1 slikovno točko na robovih delcev in jo izvedli dva krat. Kar pomeni, da smo na sliki izgubili vse delce, ki so bili manjši ali enaki 4 slikovnih točk v katerikoli smeri (Slika 13, podslika d). Ker smo s to funkcijo izgubili tudi 2 slikovni točki na robovih delcev, smo nato

uporabili funkcijo Dilate (razširiti – slo). Funkcija deluje ravno obratno od Erode in smo tako v dveh korakih delcem vrnila 2 slikovni točki na robovih (Slika 12, podsluka e). S prekrivanjem slik pred in po smo ugotovili, da z omenjenim postopkom odstranitve šuma nismo vplivali na obliko delcev. Fotografije so bile tako pripravljene na merjenje velikosti delcev. Ker se šuma nismo mogli v celoti znebiti smo nastavili zajem podatkov za delce katerih površina je večja od $0,3 \text{ mm}^2$. Izvorno sliko smo nato prekrili s sliko z izrisanimi robovi zaznanih delcev (Slika 12, podsluka f). in vizualno preverili skladnost. Ročno smo morali ločiti delce, ki so se med seboj, dotikali in artefakte, ki jih s procesiranjem slik nismo mogli odstraniti. S popravljenimi slikami smo ponovno izvedli meritve delcev.



Slika 12: Podsluka a: Originalna fotografija; Podsluka b: 8-bitna fotografija; Podsluka c: Binarna fotografija; Podsluka d: Po dvojni Erode funkciji; Podsluka e: Po dvojni dilate funkciji; Podsluka f: Obrisi delcev

Velikost delcev smo določili s parametrom velikosti minimalnega Ferretovega premera. Ker ImageJ poda rezultate meritev za vsak posamezen delec, smo rezultate prenesli v programsko opremo Excel. Pri ostalih metodah smo uporabljali volumsko distribucijo zato smo tukaj pretvorili podatke iz številčne v volumsko. Iz podatkov smo izračunali volumen pelet in prispevek posameznega delca k skupnemu volumnu vzorca. Delež volumna smo nato združili v $10 \mu\text{m}$ razrede in podatke pretvorili v kumulativno distribucijo, iz katere smo s pomočjo interpolacije izračunali percentile volumske distribucije.

3.2.4 Laserska difraktometrija

Velikost pelet smo izmerili s suho in mokro celico z napravo Mastersizer 3000 proizvajalca Malvern (Slika 13).



Slika 13: Mastersizer 3000 - merilna naprava v ozadju, disperzni moduli (mokra, suha, mokra) v ospredju (28)

Za meritve s suho celico smo vzorec pelet vsuli na dozirno drčo suhe disperzijske enote. Pelete so tako zaradi vibracij drče padale v odprtino, kjer jih je tok zraka dispergiral pred senzor optične enote. Pretok zraka in posledično hitrost delcev, smo ovrednotili med 0,5 in 3 bari. Za optimalno nastavitev se je izkazal 1 bar, ki smo ga uporabljali v nadaljnjih meritvah. Ker je za meritev potrebna dovoljšna obskuracija laserja, smo za doseganje le-te ročno povečevali moč vibracij drče z zmanjševanjem mase vzorca. V programski opremi merilne naprave smo za obliko delca imeli na voljo model okroglih in neokroglih delcev. Za meritve pelet smo izbrali slednjega.

Merjenje z mokro celico poteka tako, da pelete dispergiramo v mediju, ki ne raztaplja delcev. Zaradi kemijske narave obloge nismo mogli uporabiti vode kot topila. Kot prvi medij smo pri razvoju metode uporabili etilacetat. Ker so se pelete prilepile na kovinske dele celice in tako so tako selektivno potovale skozi optično enoto, teh rezultatov nismo mogli uporabiti. Pelete smo poskusili odlepiti z ultrazvokom, vendar brez uspeha. Kot naslednje topilo smo preizkusili heksan, v katerem so pelete prosto plavale in se niso prilepile na kovinske stene. Rezultati velikosti delcev so bili skoraj dva krat večji, kot pri meritvah s suho celico. Sklepamo, da so se pelete pokazale večjo afiniteto med seboj, kot med topilom in so se aglomerirale. Pelete smo poskušali ločiti s pomočjo ultrazvoka vendar neuspešno. Dodatek močljivca natrijevega dokusata (DSSS) je preprečil peletam aglomeriranje. Ultrazvok ni imel dodatnega vpliva na meritve zato ga nismo uporabili. Meritve smo opravili takoj, po eni minuti kroženja pelet v sistemu in po dveh minutah. Po dveh minutah so bili rezultati velikosti višji kot po 1 minuti, kar ponovno kaže na možno aglomeracijo pelet. Za meritve z mokro celico smo tako izbrali heksan z dodatkom DSSS in meritve po 1 minuti mešanja. Po vsaki meritvi smo sistem izpraznili in spirali najprej z demineralizirano vodo, nato s propanolom in nazadnje s heksanom.

3.2.5 Sejalna analiza

Sejalno analizo smo opravili s siti z odprtiniami 1400, 1250, 1120, 1000, 900, 800, 630, 500 in 400 μm . Prazna sita smo stehali in zložili po padajoči velikosti odprtin s 1400 μm sitom na vrhu in dnom na dnu. Pelete smo stresli na zgornje sito in vse skupaj vpeli v vibracijsko napravo AS200 proizvajalca Retsch. Po 15 minutah smo stresanje prekinili in sita z ostanki pelet ponovno stehali. Razlika v masi polnega in praznega sita je enaka masi pelet, ki so ostala na situ in so večje od odprtin dotičnega sita. Postopek smo v celoti ponovili za vsako meritev. Meritve smo z istim vzorcem ponovili tri krat vendar smo zaradi statičnosti pelet ob vsaki ponovitvi izgubili nekaj gramov vzorca. Maso in volumen pelet povezuje gostota zato smo podajali rezultate v volumski distribuciji.

Parametre velikosti smo pridobili z dvema metodama. Kot prvo smo diferencialne rezultate pretvorili v kumulativne, iz katerih smo z interpolacijo izračunali velikosti delcev določenega percentila. Interpolacijo smo izvedli tako, da smo vzeli dve siti med katerima se je nahajal željeni percentil in z linearno regresijo izračunali iskano vrednost. Druga metoda temelji na prilaganju z logistično porazdelitvijo v programski opremi Excel. Velikosti sit in ostanke pelet smo vnesli kumulativno. S pomočjo vmesnika Solver smo izračunali parametre funkcij tako, da je bila vsota kvadratov razlik med dejansko vrednostjo ostanka na situ in izračunano s funkcijo, minimalna. Z znanimi parametri logistične porazdelitve smo tako enostavno izračunali velikosti delcev pri željenem percentilu.

3.2.6 Vrščni elektronski mikroskop (SEM)

Z vrščnim elektronskim mikroskopom JSM-IT300 LV smo posneli fotografije obloge na prereznih peletah. Pelete smo previdno razpolovili z rezilom po sredini jih postavili v prostor za vzorec. Po vzpostavljenem visokem vakumu smo posneli fotografije s 1000-kratno povečavo. Fotografije smo obdelali s programsko opremo vrščnega elektronskega mikroskopa in ImageJ. Razdalje na sliki se pretvarjajo v velikosti v razmerju 10:1 (10 slikovnih točk je predstavljalo 1 μm na fotografiji). Nato smo ročno na vsaki sliki narisali ravne črte od jasno definiranih robov obloge usmerjenih proti sredini delca. Dolžino črt v slikovnih točkah smo s pomočjo merila pretvorili v μm . Rezultate smo prenesli v programsko opremo Excel za nadaljnjo obdelavo.

Statistično obdelavo podatkov smo opravili v večih korakih. Kot prvo smo izvedli analizo variance znotraj slik in med slikami ter izvedli F-test. Test nam pove ali se za posamezen vzorec

meritve med slikami (peletami) in znotraj slike (meritve na eni peleti) ne razlikujejo (H_0) v okviru zaupanja α . S pomočjo izračuna skupne variance vseh meritev smo izračunali interval zaupanja (15).

Razmerje med varianco
in standardnim
odklonom

$$s = \sqrt{\text{var}} \quad \text{Enačba 22}$$

Varianca med slikami

$$\text{var}_{\text{med slikami}} = \frac{\sum_{j=1}^k n_j (\bar{y}_j - \bar{y})}{k - 1} \quad \text{Enačba 23}$$

Varianca znotraj slik

$$\begin{aligned} \text{var}_{\text{znotraj slike } j} \\ = \frac{\sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (y_{ji} - \bar{y}_j)^2}{N - k} \end{aligned} \quad \text{Enačba 24}$$

F-test

$$F = \frac{\text{var}_{\text{med slikami}}}{\text{var}_{\text{znotraj slik}}} \quad \text{Enačba 25}$$

Skupna varianca

$$\text{var}_{\text{skupna}} = \frac{\sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (y_{ji} - \bar{y}_j)^2}{N - k} \quad \text{Enačba 26}$$

Debelina obloge

$$\bar{H} \pm t_{(N,\alpha)} \frac{S_{\text{skupna}}}{\sqrt{N}} \quad \text{Enačba 27}$$

j – slika, i – meritev, j_i – meritev na sliki, n_j – število meritev na sliki, \bar{y} – povprečje vseh meritev, \bar{y}_j – povprečje slike, N – število vseh meritev, s – standardni odklon, var – varianca, t – tabelarična t vrednost Studentove porazdelitve

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 Rezultati dinamične slikovne analize

4.1.1 Ponovljivost dinamične slikovne analize

Steklene kroglice smo na napravi Camsizer z modulom X-Fall izmerili v treh ponovitvah. Rezultati meritev s parametrom $T_{e_{min}}$ so prikazani v Preglednici IV. Ob predpostavki, da so razlike med vzorci standarda zanemarljive, izračunani standardni odklon predstavlja ponovljivost meritev.

Preglednica IV: Rezultati velikosti 10., 50. in 90. percentila, njihovo povprečje, standardni odklon in RSD

		D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
ponovitev	1	236,71	352,22	499,31
	2	236,31	352,17	500,06
	3	236,24	351,77	496,79
Povprečje		236,42	352,05	498,72
standardni odklon		0,25	0,25	1,71
RSD [%]		0,11 %	0,07 %	0,34 %

Nekoliko večji standardni odklon 1,71 μm smo opazili v 90. percentilu v primerjavi z 10. in 50. percentilom, ki oba znašata 0,25 μm . Meritev in izračun smo opravili za oceno napake same naprave, ki bi jo upoštevali pri izračunu napake sekundarnega vzorčenja, vendar je prispevek ponovljivosti meritev tako majhen, da smo se ga odločili zanemariti.

4.1.2 Vpliv oblike merjenih delcev na parametre velikosti

Primerjali smo absolutne razlike in relativne standardne odklone med parametri velikosti $F_{e_{max}}$, X_{area} in $T_{e_{min}}$ med vzorcem kalibracijskih steklenih kroglic, ki izkazujejo lastnosti skoraj popolne krogle in vzorcem pelet (FOP1-00) nepravilnih oblik pridobljenih z iztiskanjem in krogličanjem na proizvodnem nivoju. Ker sta vzorca med seboj v različnih velikostnih razredih smo razpršenost meritev ocenjevali z relativnim standardnim odklonom. Namesto parametra $T_{e_{min}}$ bi bila optimalna izbira $F_{e_{min}}$ vendar zaradi napačnih nastavitvev ob meritvi steklenih kroglic teh podatkov nimamo na voljo. Relativni standardni odklon 6 ponovitev meritev delcev nepravilne oblike (vzorec FOP1-00) za parametra $T_{e_{min}}$ in $F_{e_{min}}$ (Preglednica V) so bili

primerljivi pri posameznih percentilih velikosti delcev, zato predpostavimo, da sta za to aplikacijo parametra zamenljiva.

Preglednica V: Relativni standardni odklon med ponovitvami meritev vzorca FOP1-00 v 10., 50. in 90. percentilu za parametra velikosti T_{min} in $F_{e_{min}}$

Percentil	Relativni standardni odklon [%]	
	$F_{e_{min}}$	$T_{e_{min}}$
10.	0,43	0,41
50.	0,39	0,38
90.	0,13	0,12

Rezultati parametrov oblike med uporabljenima vzorcema so numerično predstavljeni v Preglednici VI.

Preglednica VI: Rezultati parametrov oblike za FOP1-00 in steklene kroglice

Parameter oblike	Pelete (vzorec FOP1-00)	Steklene kroglice
Povprečno razmerje med dolžino in širino	0,792	0,974
Povprečna sferičnost	0,945	0,983
Povprečna konveksnost	0,997	0,999

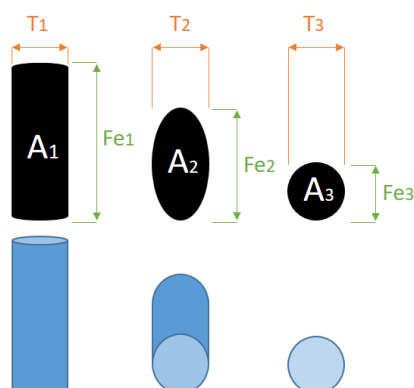
Kljub bistvenim razlikam v obliki se parametra povprečne sferičnosti in povprečne konveksnosti minimalno razlikujeta. Zato lahko iz rezultatov parametrov oblike sklepamo, da je edini relevanten parameter za prikaz razlike med skoraj popolnimi kroglicami in elipsoidnimi oblikami pelet, razmerje med širino in dolžino. Drugi parametri oblike pa pridejo v poštev pri drugih aplikacijah (naprimer vrednotenje lomljenja delcev pri izpostavitvi stresu (29)).

Nadalje smo med obema vzorcema, torej peletami FOP1-00 in steklenimi kroglicami, vrednotili in primerjali velikost delcev. Iz rezultatov v Preglednici VII je razvidno, da je RSD percentilov pri steklenih kroglicah najnižja v 50. percentilu. Zanimivo je, da je RSD v 90. percentilu pri peletah nižji od kot v 50. percentilu.

Preglednica VII: Relativni standardni odklon in absolutne vrednosti velikosti v 10., 50., in 90. percentilu med parametri velikosti za vzorec pelet FOP1-00 in steklene kroglice

Vzorec	Parameter velikosti	Relativni Standardni odklik [%]			Povprečna velikost [μm], volumska porazdelitev		
		D10	D50	D90	D10	D50	D90
Pelete FOP1-00	T_{min}	0,41	0,38	0,12	932,08	1080,57	1235,50
	X_{area}	0,62	0,43	0,27	1035,54	1246,56	1423,38
	$F_{\text{e,max}}$	0,64	0,45	0,44	1110,99	1371,15	1648,78
Steklene kroglice	T_{min}	0,11	0,07	0,34	236,42	352,05	498,70
	X_{area}	0,12	0,07	0,39	239,39	356,37	509,64
	$F_{\text{e,max}}$	0,10	0,08	0,27	242,54	359,19	524,52

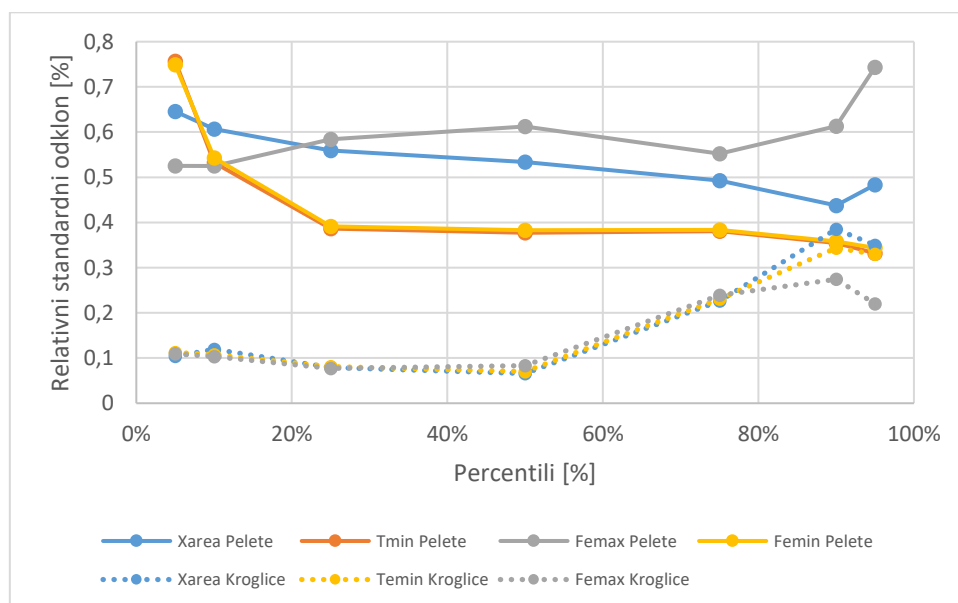
Že iz RSD-ja je razvidno, da najmanj razpršene rezultate daje T_{min} . Do tega pride, ker se vsak padajoč delec z dinamično slikovno analizo pomeri večkrat. Ker se delec med prostim padom tudi rotira, ga kamera zajame pri različnih orientacijah. Pri elipsoidnih delcih, kot smo jih uporabili tukaj (razmerje med širino in dolžino 0,79) se projekcija delca iz katerega izhajajo parametri velikosti, bistveno spremeni pri različni orientaciji delca. Skica je predstavljena na Sliki 14, kjer v spodnji vrstici vidimo delec v obliki valja, ki iz leve proti desni rotira v vodoravni osi. V zgornji vrstici pa vidimo projicirano senco, ki nastane z virom svetlobe, ki je navidezno pod spodnjo vrstico. Oznaka T prikazuje meritev T_{min} , oznaka A površino iz katere se računa X_{area} , s F_{e} pa je prikazan $F_{\text{e,max}}$. Razvidno je, da je T_{min} enak pri vseh treh orientacijah, medtem ko ima orientacija veliko večji vpliv na površino in $F_{\text{e,max}}$. Isto kot za T_{min} velja za meritve $F_{\text{e,min}}$.



Slika 14: Prikaz vpliva orientacije paličastega delca (vrstica spodaj) na njegovo projekcijo (vrstica zgoraj) s pripadajočimi parametri velikost (T – premer minimalne tetive, A – površina iz katere se izračuna X_{area} , F_{e} – $F_{\text{e,max}}$)

Če predpostavimo, da je na Sliki 14 en delec, ki bil je med padanjem pomejen v teh orientacijah, lahko razumemo zakaj imajo rezultati T_{min} najmanjšo razpršenost rezultatov

velikosti. Pri okroglih delcih to ne predstavlja bistvenih razlik saj se projekcija ne spreminja signifikantno. To potrjujejo rezultati razpršenosti med parametri velikosti, ki so v posameznem velikostnem razredu bolj primerljivi za okrogle delce kot za pelete. Kako se RSD rezultatov velikosti delcev spreminja pri različni percentilih prikazuje Sliki 15.



Slika 15: Grafični prikaz relativnega standardnega odklona velikosti delcev nepravilne oblike (pelete, polna črta) in pravilne okrogle oblike (steklene kroglice, črtkana črta) v različnih percentilih za posamezne parametre velikosti.

Isti princip razlaga tudi, zakaj so razlike v velikosti delcev med parametri velikosti bistveno različne za pelete in minimalne za steklene kroglice. Iz meritev smo ugotovili, da si velikosti parametrov zmeraj sledijo naraščajoče T_{\min} , F_{\min} , X_{area} in F_{\max} .

Ker je namen naše raziskave oceniti debelino filmske obloge moramo izbrati parameter velikosti, ki je najmanj občutljiv na orientacijo delcev nepravilnih oblik. Z eksperimentom smo potrdili, da sta to F_{\min} in T_{\min} . Za izračune debeline bomo uporabljali F_{\min} , ki je tudi med napravami različnih proizvajalcev najbolj pogost. Slabost teh dveh parametrov velikosti pa je, da sta enodimenzijska, kar pomeni da je končen rezultat velikosti enega delca ena izbrana meritev izmed mnogih. Zato bi v določenih aplikacijah (naprimer uporaba popolno okroglih delcev (30)) bila bolj primerna X_{area} , ki upošteva vse slikovne točke projekcije pri izračunu velikosti.

4.1.3 Vpliv sekundarnega vzorčenja

Na podlagi izsledkov prejšnjega poglavja smo vpliv sekundarnega vzorčenja primerjali s parametrom velikosti F_{\min} , ki daje najmanj razpršene rezultate. Masa pomejenih vzorcev

(pelete iz poglavja 3.1.1) je bila ~10 gramov. Meritve so bile izvedene v šestih ponovitvah, razen za vzorec pripravljen s kanalnim razdelilnikom, kjer je bilo ponovitev 29. V Preglednici VIII so predstavljena povprečja s standardnimi in relativnimi standardnimi odkloni v 10., 50. in 90. percentilih. Oceno reprezentativnosti smo ocenjevali s standardnim odklonom.

Preglednica VIII: Povprečna velikost, standardni in relativni standardni odklon v 10., 50. in 90. percentilu. C – vzorec pripravljen s kanalnim razdelilnikom, DNČ10 – vzorec deljenja na četrtine, SPM – vzorčenje s spatulo po mešanju, SPZV – vzorčenje s spatulo pred mešanjem. masa vzorcev ~ 10 g

Vzorec	D10			D50			D90		
	Povprečje [µm]	SD [µm]	RSD [%]	Povprečje [µm]	SD [µm]	RSD [%]	Povprečje [µm]	SD [µm]	RSD [%]
C	890,56	4,84	0,54	1038,49	3,98	0,38	1181,57	4,23	0,36
DNČ10	907,71	27,34	3,01	1047,17	18,78	1,79	1188,37	16,72	1,41
SPM	864,79	5,04	0,58	1026,01	2,66	0,26	1172,61	3,04	0,26
SPZV	865,43	17,74	2,05	1027,99	7,70	0,75	1174,05	7,16	0,61

Iz rezultatov je razvidno, da tehnika z deljenjem na četrtine daje najbolj variabilne rezultate in s tem najmanj reprezentativne vzorce. To je bilo pričakovano že pri sami pripravi vzorcev, saj so pelete statične in je bilo ravnanje ter deljenje izredno zahtevno in nepraktično. Opazimo lahko tudi, da je razlika v razpršenosti rezultatov pri vzorčenju s spatulo pred in po mešanju velika. Prvi pomislek je bil, da je zaradi stanja vsebnika vzorca je prišlo do segregacije, kar pa se na povprečnem rezultatu same velikosti ne opazi. Zato smo preverili še percentile velikosti številčne distribucije, ki je bolj občutljiva na spremembe deleža manjših delcev. Razlik v povprečju velikosti ponovno ni bilo opaziti (Preglednica VIII), se pa je nesorazmerno povečal standardni odklon za vzorec pred mešanjem.

Preglednica IX: Povprečni rezultati velikosti in standardni odkloni številčne porazdelitve v 10., 50. in 90. percentilu za vzorca SPZV - vzorčenje s spatulo pred mešanjem. masa vzorcev in SPM – vzorčenje s spatulo po mešanju

Vzorec	D10		D50		D90	
	Povprečje	SD	Povprečje	SD	Povprečje	SD
SPZV	762,71	34,16	980,35	11,81	1133,78	8,51
SPM	759,48	5,45	978,62	3,45	1131,29	3,43

Iz tega lahko sklepamo, da smo z vzorčenjem po celotni površini in z združenjem rezultatov dosegli reprezentativnost vzorca. Če gledamo na eksperiment tako, smo sekundarno vzorčenje opravili po principu razslojevanja (angl. »stratified«), kar je ena izmed oblik dobre vzorčevalne

prakse (31). Če pa gledamo na vzorčenje s spatulo pred mešanjem kot posamezne eksperimente to vsekakor dokazuje, da je pred vzorčenjem nujno potrebno vsebnik z vzorcem premešati za doseganje homogenosti primarnega vzorca, saj neposredno vpliva na reprezentativnost sekundarnega vzorca.

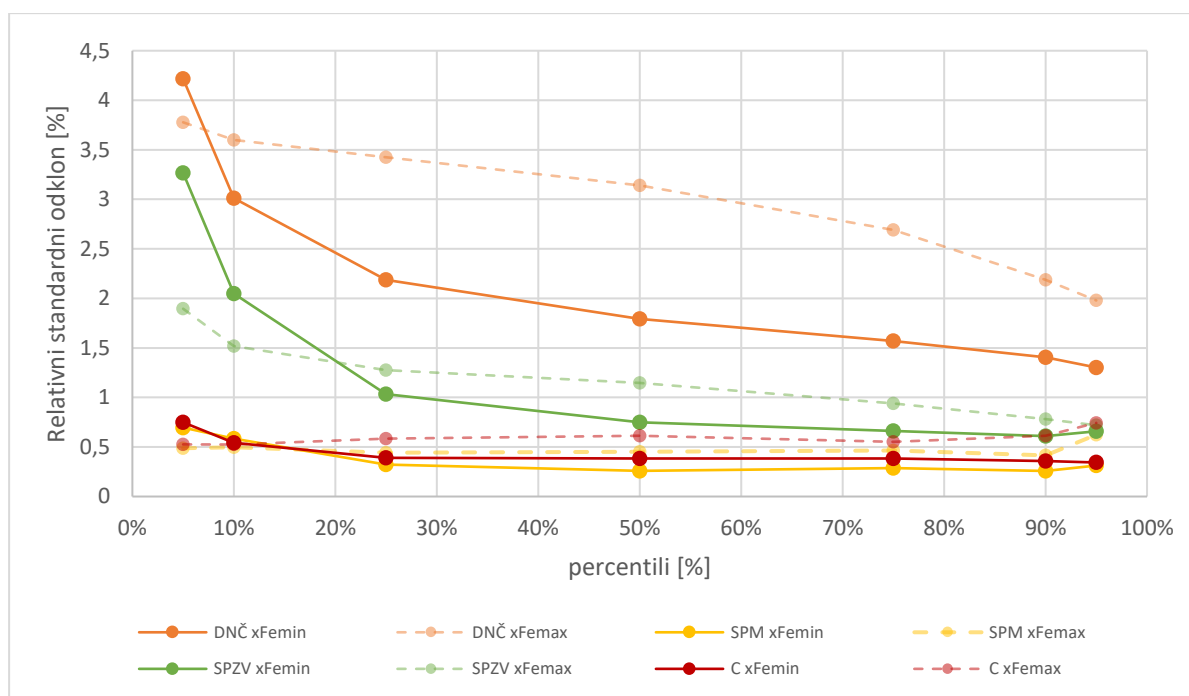
Če se vrnemo na Preglednico IX in primerjamo standardni odklon kanalnega razdelilnika z vzorčenjem s spatulo po mešanju, lahko rečemo, da sta tehniki primerljivi. Ker je število vzorcev bistveno večje za vzorec pripravljen s kanalnim razdelilnikom smo vseh 29 meritev naključno razporedili v 4 skupin po 6 meritev in 1 skupino po 5. Izračunali smo povprečje, standardni in relativni standardni odklon za lažjo primerjavo z rezultatom vzorcev s spatulo po mešanju. Rezultati so predstavljeni v Preglednici X.

Preglednica X: Povprečna velikost, standardni in relativni standardni odklon v 10., 50. in 90. percentilu. C – vzorec pripravljen s kanalnim razdelilnikom, C1 – C5: združeni rezultati naključnih ponovitev vzorca C, SPM – vzorčenje s spatulo po mešanju.

Vzorec	Število meritev	D10			D50			D90		
		Povprečje [μm]	SD [μm]	RSD [%]	Povprečje [μm]	SD [μm]	RSD [%]	Povprečje [μm]	SD [μm]	RSD [%]
SPM	6	864,79	5,04	0,58	1026,01	2,66	0,26	1172,61	3,04	0,26
C	29	890,56	4,84	0,54	1038,49	3,98	0,38	1181,57	4,23	0,36
C1	6	890,03	4,57	0,51	1037,82	3,87	0,37	1181,04	2,37	0,20
C2	6	891,41	4,36	0,49	1038,15	3,49	0,34	1180,60	4,58	0,39
C3	6	888,74	3,64	0,41	1038,57	4,33	0,42	1181,55	5,34	0,45
C4	6	893,92	4,15	0,46	1040,21	3,43	0,33	1183,34	3,60	0,30
C5	5	888,33	6,79	0,76	1037,55	5,69	0,55	1181,27	5,77	0,49

Rezultati skupin naključno združenih ponovitev hkrati kažejo nižje in višje relativne standardne odklone od vzorca SPM. Medtem ko smo z združevanjem v skupine v 10. in 90. percentilu dosegli tudi nižje RSD-je od SPM, so v 50. percentilu ti še zmeraj vsi višji. Tudi z umetno razdelitvijo ponovitev vzorca C v manjše razrede, ne moremo sklepati o boljši reprezentativnosti vzorcev pripravljenih s kanalnim razdelilnikom, kot nam o tem govorijo literaturni podatki (19,20,32).

Relativni standardni odklon za Fe_{min} , ki je izkazoval najmanjšo razpršenost rezultatov in Fe_{max} , ki je izkazoval največjo razpršenost rezultatov za delce nepravilnih oblik v različnih percentilih je predstavljen na Sliki 16.



Slika 16: Relativni standardni odklon v različnih percentilih za: C – vzorec pripravljen s kanalnim razdelilnikom, DNČ10 – vzorec deljenja na četrtine, SPM – vzorčenje s spatulo po mešanju, SPZV – vzorčenje s spatulo pred mešanjem.

Iz grafa lahko razberemo, da je pri vzorcu s spatulo po mešanju in pri vzorcih s kanalnim razdelilnikom, relativni standardni odklon po celotni distribuciji primerljiva med Fe_{min} in Fe_{max} . Večja odstopanja lahko opazimo pri vzorcu deljenja na četrtine in pri vzorcu s spatulo pred mešanjem na levi strani distribucije.

Rezultatov pa ne moremo direktno primerjati z literaturnimi (19,20,32) saj so v študijah primerjali rezultate različnih analiz in z bistveno drugačnimi materiali (manjši delci bimodalne distribucije). Kljub temu lahko v Preglednici XI vidimo grupiranje napak v enakem vrstnem redu.

Preglednica XI: Primerjava relativnega standardnega odklona rezultatov magistrske naloge s literaturnimi (32)

Tehnika	Relativni standardni odklon [%]	
	Rezultati magistrske naloge	Literatura
Deljenje na četrtine	1,79	6,81
Vzorčenje s spatulo pred mešanjem	0,75	5,14
Vzorčenje s spatulo po mešanju	0,26	
Kanalni razdelilnik	0,38	1,01

Z združenimi rezultati eksperimentov in literature je razvidno, da s kanalnim razdelilnikom dobimo najbolj reprezentativne vzorce, zato je ta tehnika sekundarnega vzorčenja uporabljena pri pripravi vseh nadaljnjih vzorcih magistrske naloge.

4.1.4 Vpliv velikosti vzorca na meritev z dinamično slikovno analizo

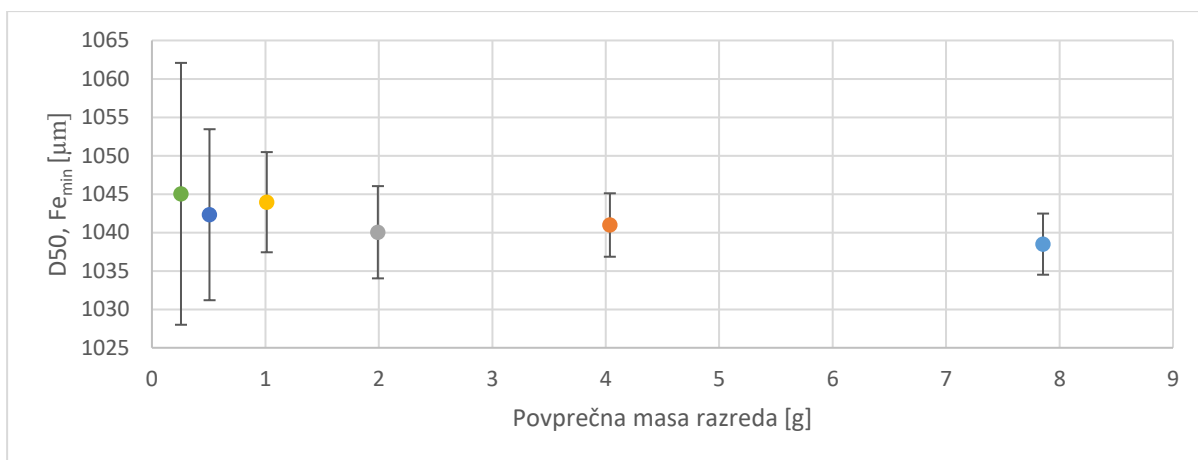
V nadaljevanju smo za optimizacijo priprave vzorca in same meritve smo vrednotili vpliv števila pomerjenih delcev oziroma velikost vzorca (pelete iz poglavja 3.1.1). Povprečni rezultati $F_{e_{min}}$ in pripadajoči standardni ter relativni standardni odklon so prikazani v Preglednici XII. Ocena števila zaznav delcev v vzorcu je narejena s pomočjo linearne regresije med maso vzorca in številu zaznav delcev, ki jih izpiše programska oprema Camsizer, s pomočjo točk iz vsakega velikostnega razreda. Iz znane povprečne mase vzorcev smo tako izračunali oceno zaznav delcev v posameznem velikostnem razredu. Število zaznav in število delcev v vzorcu ni enako, saj se z dinamično slikovno analizo delci pomerijo večkrat. Ker kanalni razdelilnik omogoča delitev vzorca le na pol, se z manjšanjem vzorca povečuje tudi število delitev. Z vsako delitvijo se napaka sekundarnega vzorčenja poveča. Za upoštevanje napake le velikosti vzorca bi od končne napake z izračunom odšteli prispevke vseh napak, ki pa nam niso v celoti znane. Tako so v tem poglavju prikazani standardni odkloni, ki so vsota napak velikosti vzorca, sekundarnega vzorčenja in ponovljivosti meritev.

Preglednica XII: Povprečni rezultati in pripadajoč standardni ter relativni standardni odklon vzorcev različnih velikostnih razredov v 10., 50. in 90. percentilu

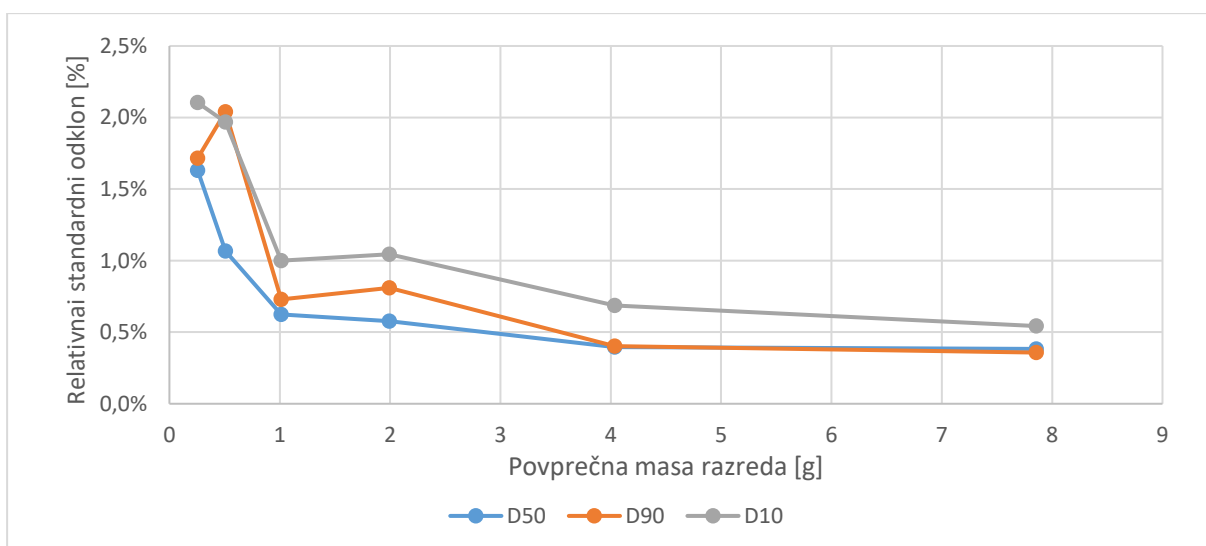
Oznaka vzorca	Število ponovitev	Povprečna masa vzorca [g]	Ocena zaznav delcev v vzorcu	D10			D50			D90		
				Povp. [μm]	SD [μm]	RSD [%]	Povp. [μm]	SD [μm]	RSD [%]	Povp. [μm]	SD [μm]	RSD [%]
C	29	7,855	24300	890,56	4,84	0,54	1038,49	3,98	0,38	1181,57	4,23	0,36
D	30	4,036	12500	892,91	6,14	0,69	1040,98	4,13	0,40	1186,42	4,77	0,40
E	30	1,992	6200	893,45	9,33	1,04	1040,04	6,00	0,58	1181,84	9,58	0,81
F	30	1,012	3200	897,51	8,97	1,00	1043,95	6,52	0,68	1184,91	8,64	0,73
G	30	0,508	1600	898,51	17,70	1,97	1042,32	11,13	1,07	1177,33	24,02	2,04
H	30	0,256	800	896,70	18,87	2,10	1045,04	17,04	1,63	1181,21	20,27	1,72

Standardni odklon narašča z manjšanjem vzorca v 10. in 50. percentilu. V 90. percentilu lahko opazimo, da je standardni odklon vzorcev velikostnega razreda F manjši od E in enako za velikostna razreda G in H. To bi lahko bila posledica majhnega števila delcev ali sekundarnega

vzorčenja. Trend padanja standardnega odklona v 50. percentilu z večanjem vzorca je razviden iz Slike 17. Trend relativnega standardnega odklona v 10., 50. in 90. percentilu v odvisnosti od mase vzorca pa je prikazan na Sliki 18.



Slika 17: Graf velikosti v 50. percentilu in pripadajoči standardni odklon po različnih masah vzorca.



Slika 18: Graf relativnega standardnega odklona za 10., 50. in 90. percentil po različnih masah vzorca

Vzorca velikostnega razreda H (0,256 g) in G (0,508 g) sta služila oceni zanesljivosti meritev vsebine ene kapsule. Kljub večji napaki (SD 11,13 µm), v primerjavi z večjimi vzorci (SD 4,13 µ za 4 g vzorec), so povprečja meritev zelo podobna. Iz tega lahko zaključimo, da je dinamična slikovna analiza primerna za oceno povprečne velikosti delcev tudi z vsebino le ene kapsule.

Rezultati vrednotenja vpliva velikosti vzorca na razpršenost rezultatov velikosti so bili v skladu s pričakovanji in tudi izsledki drugih raziskav (33–35). Z eksperimentom smo želeli optimizirati velikost vzorca, od katerega je odvisen čas meritve. Ker sta največja velikostna razreda C (8 g)

in D (4 g) pokazala najboljše rezultate s stališča relativnega standardnega odklona in ker gre hkrati še zmeraj za gledano z industrijskega vidika relativno majhno maso vzorca, smo v nadaljevanju uporabljali vzorce v masnem intervalu razreda C in D.

4.1.5 Ocena debeline filmske obloge

4.1.5.1 Enostaven pristop

Debelino filmske obloge lahko v teoriji izračunamo z razliko polovic velikosti vstopnih jeder in velikosti obloženih pelet pri danem masnem nanosu. Tak izračun smo opravili za debelino obloge za eksperiment FOP2 pri 7 % masnem nanosu. Izračun smo naredili s 50. percentilom in parametrom velikosti Fe_{min} . Rezultati povprečnih velikosti s pripadajočim standardnim odklonom in izračun debeline filmske obloge (H) so prikazani v Preglednici XII.

Preglednica XIII: Povprečne velikosti in pripadajoč standardni odklon vstopnih jeder in pelet z masnim nanosom obloge 7 % ter izračunana debelina.

Vzorec	D50 [μm]	SD [μm]
Neobložena jedra (FOP2-00)	1107,92	1,04
7% masni nanos (FOP2-07)	1124,86	1,59
H obloge pri 7% masnega nanosa	8,47	1,03

Razprava o rezultatih je v poglavju 4.1.5.4.

4.1.5.2 Izračun debeline z izbranimi vzorci

Za primerjavo rezultatov dinamične slikovne analize z drugimi metodami za določanje velikosti delcev so bili izbrani vzorci eksperimenta FOP3 pri masnem nanosu filmske obloge 3 %, 5 % in 7 %. S pomočjo enostavnega izračuna linearne regresije smo z rezultati dinamične slikovne analize v 50. percentilu napovedali debelino obloge pri 8%. Napoved debeline pri tem masnem nanosu je bila izbrana za izračun, saj je bila ta debelina izmerjena z vrstičnim elektronskim mikroskopom, ki služi kot referenčna meritev. Uporabljen parameter velikosti za izračun je bil Fe_{min} . Povprečne vrednosti s pripadajočimi standardnimi odkloni in izračunane debeline filmske obloge so prikazani v Preglednici XIV.

Preglednica XIV: Povprečne velikosti in pripadajoči standardni odkloni pelet z masnim nanosom obloge 3 %, 5 % in 7 % ter izračunana debelina filmske obloge pri 8 % masnim nanosom.

Vzorec	Masni nanos [%]	D50 [μm]	SD [μm]
FOP3-03	3	1098,22	1,07

FOP3-05	5	1105,77	2,92
FOP3-07	7	1112,14	2,18
H obloge pri 8% masnega nanosa	8	13,92	/

Razprava o rezultatih je v poglavju 4.1.5.4.

4.1.5.3 Model za izračun debeline filmske obloge

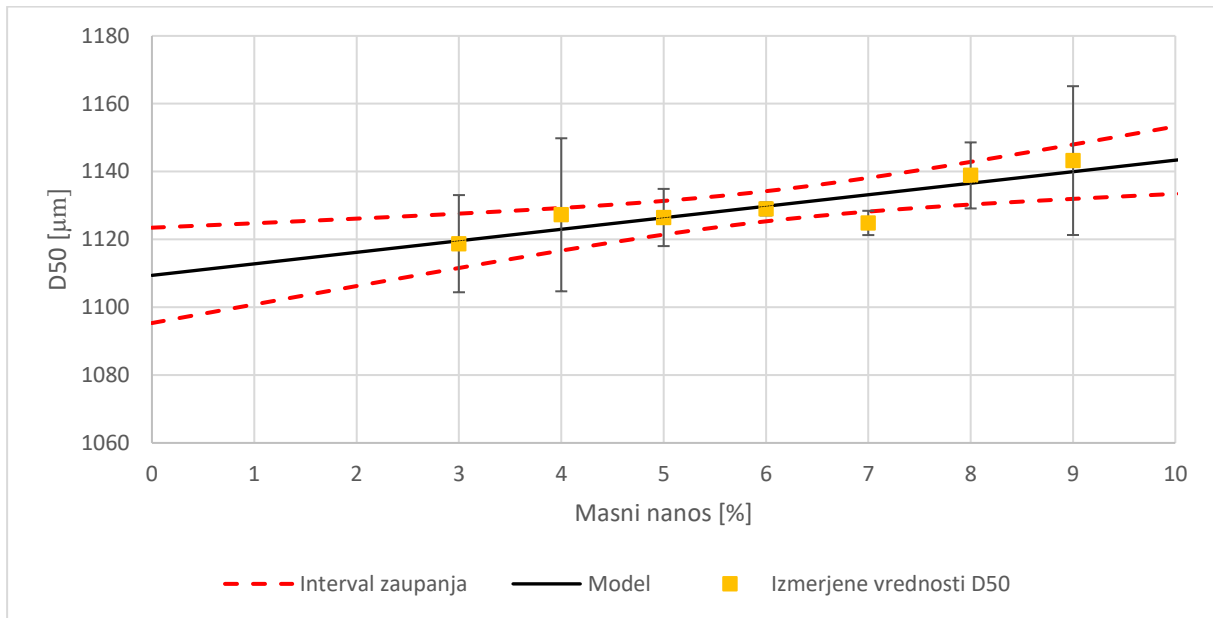
Pomerili smo vzorce pelet 3 različnih eksperimentov (FOP1, FOP2, FOP3) z različnim masnim nanosom in z rezultati postavili model za izračun velikosti debeline filmske obloge pri poljubnem masnem nanosu. Ker smo jedra vzorčili izven dobre vzorčevalne prakse jih pri izračunu nismo upoštevali. Velikost začetnih jeder b_0 je tako izračunana po modelu. Z izsledki prejšnjih poglavij smo vzorce pripravili s kanalnim razdelilnikom za parameter velikosti pa izbrali Fe_{min} . Debeline in pripadajoč interval zaupanja smo izračunali tudi z drugimi parametri velikosti, vendar jih v magistrsko nalogo nismo vključevali, saj rezultati niso bistveno drugačni. Izračunali smo tiste vrednosti masnih nanosov, ki smo jih pomerili tudi z vrstičnim elektronskim mikroskopom. Parametri računskega modela in rezultati izračunane debeline obloge (glej poglavje 3.2.2.1) so prikazani v Preglednici XV.

Preglednica XV: Parametri računskega modela (b_1 naklon premice, b_0 začetni premer peletnih jeder izračunan z modelom), izračunana velikost delcev s končnim nanosom in izračunana debelina obloge s 95% intervalom zaupanja.

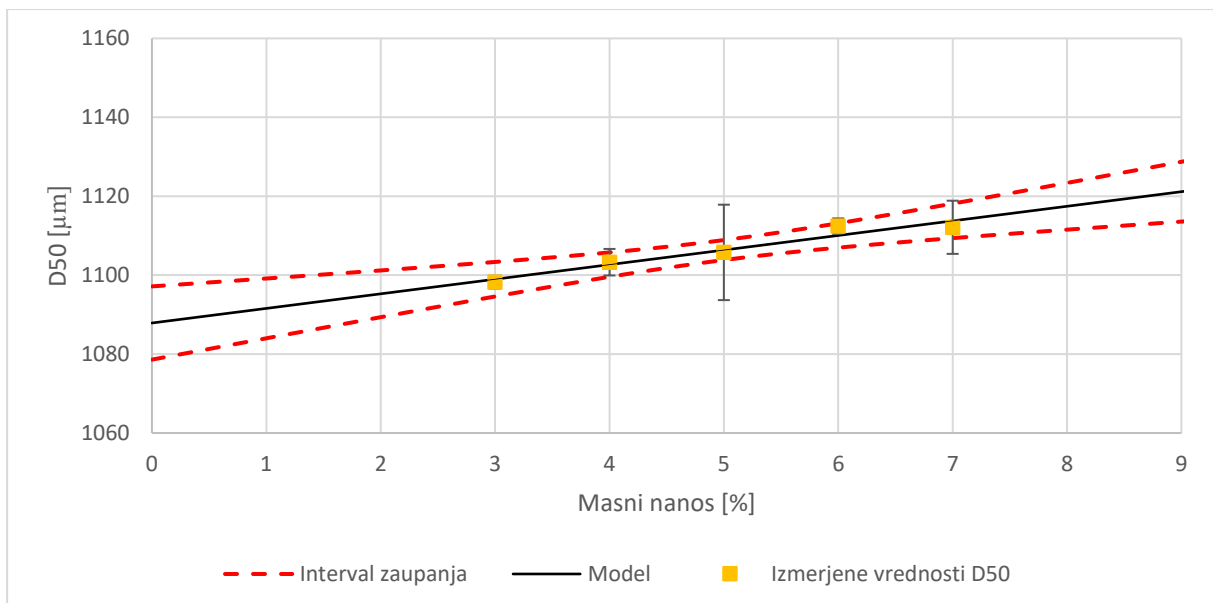
		FOP1	FOP2		FOP3
Masni nanos x_0 [%]		5	7	10	8
Število vzorcev k		3	7		5
Parametri modela	$b_1 \pm SD$	2,047 ± 1,212	3,396 ± 0,865		3,697 ± 0,562
	$b_0 \pm SD$ [μm]	1070,097 ± 4,950	1109,401 ± 5,469		1087,880 ± 2,918
Debelina filmske obloge	Izračunana velikost pelet z masnim nanosom $x_0 \pm$ interval zaupanja [μm]	1080,330 ± 19,894	1133,173 ± 4,970	1143,360 ± 9,940	1117,455 ± 5,923
	Z modelom izračunana debelina H ± interval zaupanja [μm]	5,112 ± 41,403	11,886 ± 9,514	16,980 ± 11,999	14,788 ± 7,602

Interval zaupanja debeline filmske obloge pri vzorcu FOP1 je veliko večji kot sam izračun debeline filmske obloge. V primerjavi z drugimi vzorci, je prišlo do tako velike napake zaradi premajhnega števila vzorcev z različnim masnim nanosom obloge, zato je način ocene neuporaben za nadaljnjo obravnavo. Modela za vzorca FOP2 in FOP3 pa imata ožji interval zaupanja. Interval zaupanja pri modelu za FOP2 je širši od FOP3 na račun večjega standardnega

odmika izračunih velikosti začetnih jeder t.j. odsek na y osi b_0 . Interval zaupanja modela se hiperbolično veča bolj, kot se z napovedjo oddaljujemo od meritev s katerimi smo model postavili (Slika 19 in Slika 20). To je dobro razvidno pri izračunu debeline za vzorec FOP2 pri 7 % masnega nanosa, kjer je interval zaupanja manjši od izračuna pri masnem nanosu 10%, ki je izven območja meritev za postavitev modela.



Slika 19: Rezultati meritev 50. procentila in pripadajoči standardni odkloni ter model z mejami intervala zaupanja modela pri 95% verjetnosti za vzorec FOP2.



Slika 20: Rezultati meritev 50. procentila in pripadajoči standardni odkloni ter model z mejami intervala zaupanja modela pri 95% verjetnosti za vzorec FOP3

Odstopanja povprečij meritev od modelne vrednosti lahko v veliki meri pripišemo napaki primarnega in sekundarnega vzorčenja. Primarno vzorčenje je potekalo skozi odprtino za vzorčenje na vrtnično slojnim oblagalniku v enem koraku. Napako vzorčenja bi lahko zmanjšali z optimizacijo primarnega vzorčenja, kjer bi lahko pelete vzorčili večkrat v ozkem časovnem obdobju (naprimer 5 krat znotraj ene minute) ter tako dobili bolj reprezentativen vzorec pri danem masnem nanosu.

Model bi lahko tudi bistveno izboljšali z bolj pogostim vzorčenjem (naprimer na 0,5 % masnega nanosa) in več ponovitvami meritev posameznih vzorcev (naprimer 10 namesto 3). Ker gre za pelete vzorčene na razvojni seriji na proizvodnem nivoju, smo ohranili interno vzorčevalno prakso, kar nas je omejevalo tudi pri količini materiala za vse analize. Ob vseh že omenjenih možnih izboljšavah bi k natančnosti modela prispevala tudi pravilnejša oblika pelet in večja debelina oblog. Tega v našem primeru ne bi mogli izboljšati saj gre za oceno debeline filmskih oblog realnega izdelka v razvoju.

Kljub vzorčenju začetnih jeder izven dobre vzorčevalne prakse so za vzorec FOP2 rezultati modela in povprečna vrednost izmerjena z DIA primerljivi (Preglednica XVI). Pri vzorcu FOP3 lahko opazimo večje odstopanje $\sim 9 \mu\text{m}$ in še večje pri vzorcu FOP1 $\sim 21 \mu\text{m}$. Razlike so lahko posledica primarnega vzorčenja za ali števila vzorcev za postavitev modela, saj najboljše ujemanje vidimo pri vzorcu FOP2, katerega model je bil postavljen s sedmimi vzorci. P. Avalle (36) in Heinicke (37) s sodelavci razlagajo razlike med izmerjenimi vrednostmi in izračunanimi velikostmi s skrčenjem pelet v fazi gretja pred oblaganjem ali z atitracijo/krušenjem pelet med samim procesom. Druge možne razlage so pronicanje oblagalne suspenzije v pore jedra v zgodnjih fazah oblaganja, delno raztapljanje na površine pelet in slaba adhezija prvotnih plasti obloge na jedru. Pri našem eksperimentu nastopa preveč spremenljivk, da bi lahko vse te učinke identificirali.

Preglednica XVI: Izmerjena velikost začetnih jeder z DIA in izračunana velikost začetnih jeder z modelom za eksperimente FOP1, FOP2 in FOP3.

	FOP1-00	FOP2-00	FOP3-00
Modelna začena vrednost $b_0 \pm \text{SD}$ [μm]	1070,10 \pm 4,95	1109,40 \pm 5,47	1087,88 \pm 2,92
Povprečni izmerjen $D_{50} \pm \text{SD}$ (Fe_{min}) [μm]	1091,74 \pm 4,26	1107,92 \pm 1,04	1078,21 \pm 3,36

4.1.5.4 Primerjava rezultatov računskih metod za določanje filmske debeline obloge z rezultati dinamične slikovne analize

V prejšnjih poglavjih sta prikazani 2 različni računski metodi za izračun debeline obloge pri nekem masnem nanosu.

Izračunana debelina z enostavnim pristopom z razliko polovice velikosti vstopnih jeder in pelet tarčnega masnega nanosa znaša 8,47 μm , z modelom pa za isti eksperiment 11,89 μm . Do razlike 3,42 μm verjetno pride primarno zaradi napake primarnega vzorčenja. Kljub temu, da je standardni odklon povprečnih velikosti nizek (1,04 μm za jedra in 1,59 μm za pelete) nam ta govori le o napaki sekundarnega vzorčenja in napaki merilne naprave. Tako enostaven izračun ne upošteva napake primarnega vzorčenja, medtem ko napovedni model upošteva tudi napako primarnega vzorčenja, napako sekundarnega vzorčenja in napako merilne naprave pri vseh vzorcih. Iz tega lahko zaključimo, da enostaven pristop za izračun debeline filmske obloge ni primeren.

Izračun debeline filmske obloge z izbranimi vzorci služi primerjavi rezultatov primerjalnih metod. Debeline filmske obloge le z izbranimi vzorci znaša 13,92 μm , medtem ko je debelina za isti eksperiment z modelom postavljenim z vsemi vzorci 14,79 μm . Do razlike 0,87 μm verjetno pride zaradi veliko manjšega števila vzorcev za izračun z izbranimi vzorci in je znotraj intervala zaupanja modela. To nakazuje, da je za oceno debeline filmske obloge izračun le z izbranimi vzorci primeren in bo rezultat zadoščal za primerjavo z drugimi metodami. Vzorci za primerjavo z drugimi metodami so bili izbrani na podlagi dobrega ujemanja napovedi z modelom. Kakorkoli, zaradi premajhnega števila vzorcev ni možno izračunati napake oziroma intervala zaupanja napovedi, kot smo to pokazali pri modelu z eksperimentom FOP1.

Z danimi rezultati lahko zaključimo, da je dinamična slikovna analiza z napravo Camsizer z modelom postavljenim s primernimi vzorci, ustrezna metoda spremljanja prirasta debeline in napoved debeline filmske obloge pri željenem masnem nanosu.

4.2 Rezultati drugih metod in primerjava z dinamično slikovno analizo

4.2.1 Vrstični elektronski mikroskop

Z vrstičnim elektronskim mikroskopom, edino metodo, ki neposredno meri debelino obloge, in programsko opremo ImageJ smo določili debelino filmske obloge pelet pri treh različnih eksperimentih (FOP1, FOP2, FOP3). V prvem koraku statistične analize smo izvedli F-test z

ničelno hipotezo H_0 : Povprečne vrednosti se med vsemi slikami enega vzorca statistično ne razlikujejo v okviru dvostranskega intervala zaupanja 95 %. Izračunane F vrednosti so prikazane v Preglednici XVII.

Preglednica XVII: Povzetek meritev, izračunane vrednosti in pripadajoče tabelarične kritične F vrednosti. Podana je povprečna debelina in pripadajoči intervali zaupanja med slikami, znotraj slik in upoštevanja vseh meritev.

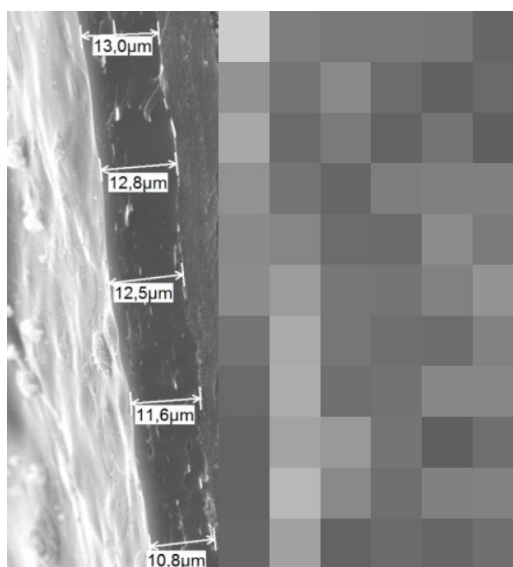
	FOP1	FOP2		FOP3
Število vseh meritev N	25	99	25	25
Število slik k	5	9	5	5
Število meritev na sliko (peleto) nj	5	10	5	5
Masni nanos x_0 [%]	5	7	10	8
F-Test	30,2156	21,8049	8,0572	3,9613
F kritična pri 5% dvostranski α	2,866	2,0442	2,866	2,866
Povprečna debelina obloge H [μm]	10,0	10,9	15,9	14,2
Interval zaupanja med slikami (med različnimi peletami) [μm]	$\pm 5,6$	$\pm 1,1$	$\pm 3,5$	$\pm 3,7$
Interval zaupanja znotraj slik (meritve na eni peleti) [μm]	$\pm 0,8$	$\pm 0,2$	$\pm 0,9$	$\pm 1,4$
Interval zaupanja vseh meritev [μm]	$\pm 0,3$	$\pm 0,2$	$\pm 0,4$	$\pm 0,6$

Eksperimentalne F vrednosti za posamezni vzorec so večje od $F_{\text{kritična}}$, kar pomeni, da zavrnamo ničelno hipotezo. Že na tej točki vidimo, da merjenje debeline obloge s SEM statistično gledano ni zanesljiva metoda za merjenje debeline filmske obloge. V vseh nadaljnjih statističnih obdelavah smo predpostavili, da je bila ničelna hipoteza potrjena.

Na podlagi intervalov zaupanja lahko vidimo, da je interval zaupanja med slikami najširši, kar postavlja pod vprašaj reprezentativnost izbranih posameznih pelet na sliko. Najvišja je pri vzorcu FOP1, kjer smo merili najmanjši nanos obloge. Ker v primerjavi z drugimi metodami, analiziramo v najboljšem primeru le nekaj deset pelet bi lahko rezultate izboljšali z analizami več pelet istega vzorca. Vendar je po drugi strani metoda sama po sebi zelo počasna in zahtevna, kar onemogoča veliko število analiz. Rezultati so tako močno odvisni od reprezentativnosti izbranih pelet. Pristranost SEM operaterja lahko vključuje izbiro točno določenih pelet za analizo, npr. čimbolj okroglih in velikih pelet, kar dodatno prispeva k nereprezentativnosti rezultatov.

Meritve znotraj posameznih slik imajo nižji standardni odklon, iz česa lahko sklepamo na boljšo enakomernost debeline obloge na posamezni peleti. Ker slika predstavlja zelo majhen del pelete (Slika 21), so vse meritve opravljene na območju, ki je zelo verjetno ni reprezentativen. K nezanesljivosti pripomore tudi dejstvo, da moramo pelete prerezati s čimer lahko fizično

vplivamo na strukturo obloge. S prerezom vnesemo v meritev tudi napako osebe, ki pelete prereže. Natančnost metode v tej luči ne moremo izboljšati saj bi s slikanjem večjega območja zmanjšali resolucijo, brez fizičnega prereza pa debeline ne moremo meriti.



Slika 21: Slika filmske obloge posneta s vrstičnim elektronskim mikroskopom in primer opravljenih meritev na peleti vzorca FOP2-10. Na levi strani slike je prikazano površje obloge, na desni pa jedro.

Če ne bi naredili posameznih statističnih analiz med slikami in znotraj njih in bi uporabili vse posamezne meritve vidimo, bi dobili zelo ozek interval zaupanja, kar je posledica navidezno velikega števila meritev. Vpliv navidezno velikega števila meritev pride do izraza pri ožjih intervalih zaupanja pri vzorcu FOP2 pri 7% masnem nanosu, kjer smo opravili veliko večjo število meritev na sliko. Ne smemo pa pozabiti dejstva, da smo že z F-testom pokazali, da meritve istega vzorca nimajo homogene variance. Kljub temu služijo namenu izpostavljanja slabosti metode.

Kljub pomanjkljivosti metode nam njeni rezultati povprečni potrjujejo model dinamične slikovne analize za vzorca FOP2 in FOP3 (Preglednica XVIII).

Preglednica XVIII: Rezultati debeline SEM in modela DIA s pripadajočimi intervali zaupanja pri dvostranskem $\alpha=0,05$

	FOP2		FOP3
Masni nanos x_0 [%]	7	10	8
Povprečna debelina obloge H [μm]	10,9	15,9	14,2
Interval zaupanja med slikami [μm]	$\pm 1,1$	$\pm 3,5$	$\pm 3,7$
Interval zaupanja znotraj slik [μm]	$\pm 0,2$	$\pm 0,9$	$\pm 1,4$
Interval zaupanja vseh meritev [μm]	$\pm 0,2$	$\pm 0,4$	$\pm 0,6$

H modela DIA ($F_{e_{min}}$) z Intervalom zaupanja [μm]	11,9 \pm 9,5	17,0 \pm 12,0	15,0 \pm 7,6
---	----------------------------------	-----------------------------------	----------------------------------

S statistično obdelavo smo pokazali, da je metoda SEM primerna le za semi-kvantitativno oceno debeline obloge in ni primerna za spremljanje rasti obloge ali za napoved debeline v neznanem območju masnega nanosa.

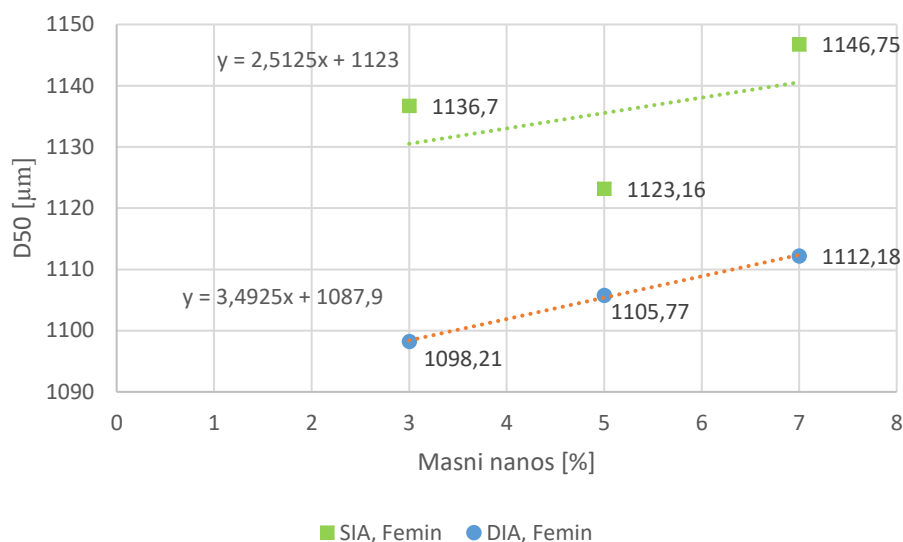
4.2.2 Statična slikovna analiza

Statično slikovno analizo smo opravili s tremi $\sim 2,5$ g vzorci eksperimenta FOP3 pri masnem nanosu 3 %, 5 % in 7 %. Za vsak vzorec smo naredili več slik, saj je število pelet v vzorcu večje kot jih lahko zajeta površina fotoaparata sprejme naenkrat. S pomočjo programske opreme ImageJ smo analizirali velikost delcev s parametrom velikosti $F_{e_{min}}$. Rezultati so skupaj z rezultati dinamične slikovne analize istih vzorcev so zbrani v Preglednici XIX in grafično prikazani na Sliki 22.

Preglednica XIX: Rezultati 10., 50. in 90. percentila Statične slikovne analize (SIA) in Dinamične slikovne analize (DIA) za eksperiment FOP3 pri 3 %, 5 % in 7 %

	FOP3-03		FOP3-05		FOP3-07	
Percentil	SIA	DIA	SIA	DIA	SIA	DIA
D10 [μm]	982,00	953,28	966,85	961,91	989,46	966,48
D50 [μm]	1136,70	1098,21	1123,16	1105,77	1146,75	1112,18
D90 [μm]	1284,00	1250,77	1276,07	1257,62	1297,29	1264,71
Število zaznanih delcev	3355	~ 21200	3646	~ 23000	2642	~ 22900

Rezultati vzorca FOP3-05 so v vseh treh percentilih manjši od FOP-03, ki ima manjši nanos obloge, kar je v nasprotju z DIA rezultati. Z metodo linearne regresije smo, kljub pomanjkljivosti metode, izračunali teoretični prirast debeline obloge s 50. percentilom interpolacije na 8 % masnega nanosa (Slika 22). Izračunana debelina je znašala 10 μm . Izračun z isto metodo z rezultati DIA istih vzorcev daje debelino 14 μm , izračun z modelom pa 15 μm . Izračun debeline s podanimi koeficienti linearne regresije na Sliki 22 je potrebno razpoloviti, saj slika prikazuje premer delcev, debelino pa računamo iz polmera.



Slika 22: Grafični prikaz rezultatov 50. percentila SIA (zeleno) in DIA (modro) s parametrom velikosti F_{min} za vzorce eksperimenta FOP3 pri masnem nanosu 3 %, 5 % in 7 %.

Meritve z DIA so zaznale občutno več delcev kot SIA, vendar kot je razvidno iz poglavja 4.1.4, da število zaznav pri DIA nima bistvenega vpliva na povprečno vrednost v 50. percentilu. Če primerjamo rezultate SIA z DIA vidimo pri slednji nižje vrednosti (Slika 22), kar je posledica preferenčne orientacije. Pelete se bodo pri SIA vedno obrnile tako, da bo v smeri od površine navzgor vedno najmanjši premer (Slika 8), kar pomeni, da te dimenzije s SIA ne moremo izmeriti, medtem ko jo zaradi poljubne orientacije pri meritvi z DIA lahko. Razlike lahko dodatno pripišemo majhnemu številu pomerjenih delcev (en delec je pomerjen enkrat) in bistveno nižji resoluciji v primerjavi z DIA (en delec je lahko pomerjen večkrat).

Rezultate bi lahko izboljšali s približanjem kamere podlagi, s čimer bi povečali resolucijo. Posledično se zmanjša površina za vzorec, kar bi pomenilo, da je potrebno narediti bistveno več fotografij in bi občutno podaljšalo že tako zelo počasno metodo. Vpliv orientacije bi lahko zmanjšali tako, da bi naredili več fotografij istih pelet in jih med fotografijami pretresli, vendar bi zaradi nepravilnih oblik večina pelet najverjetneje zavzela isto orientacijo. Ker je potrebno pelete ročno premeščati, da se ne dotikajo, bi tudi ta ukrep bistveno podaljšal čas analize. Za direktno primerjavo z DIA bi bilo tudi smiselno narediti korelacijo z delci pravilnejše oblike.

Rezultati velikosti SIA pelet niso primerni za izračun debeline filmske obloge. Kljub temu menimo, da je metoda zaradi svoje preprostosti in dostopnosti še zmeraj dovolj natančna za oceno večjih razlik v velikosti delcev, kadar ni na voljo naprednejših merilnih naprav.

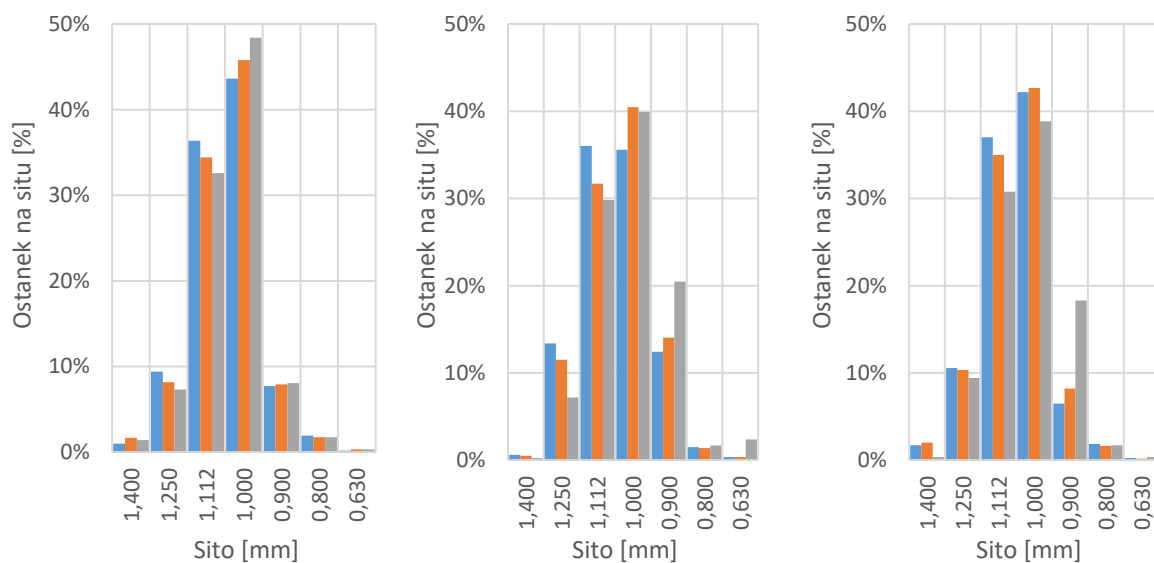
4.2.3 Sejalna analiza

Sejalno analizo smo opravili s peletami eksperimenta FOP3 s 3%, 5% in 7% masnega nanosa. Zaradi omejene mase vzorca smo sejalno analizo zaporedno ponovili tri krat za vsak vzorec.

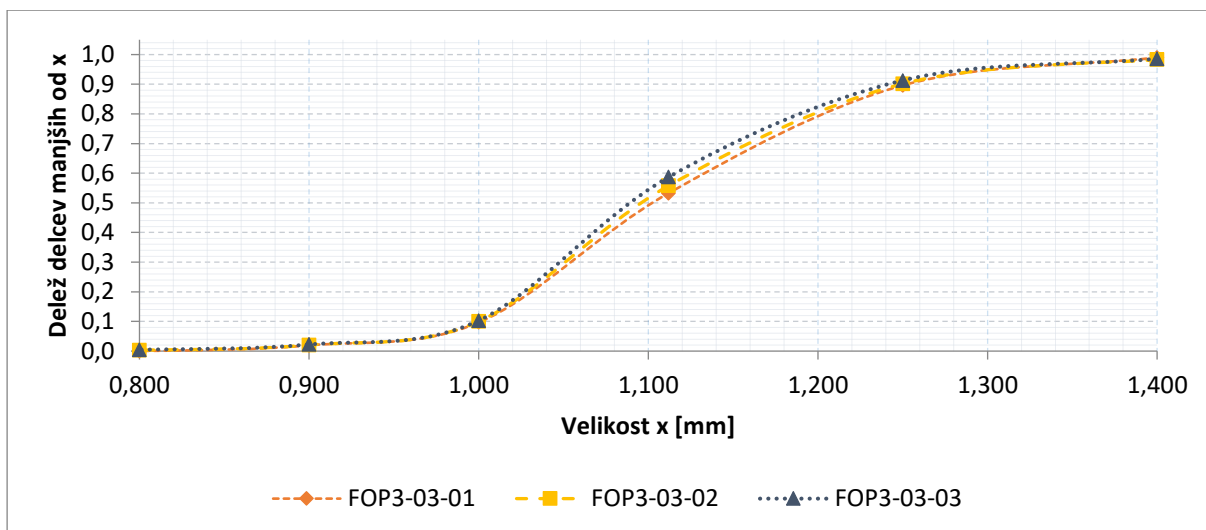
Ob pregledu rezultatov sejalne analize (Preglednica XX) smo videli, da masa celotnega vzorca med ponovitvami pada. Kot je razvidno iz Slike 23, se s ponovitvami v manjši meri tudi spreminjajo tudi rezultati.

Preglednica XX: Mase vzorcev eksperimenta FOP3 s 3 %, 5 % in 7 % masnim nanosom ob ponovitvah in relativna razlika mase med ponovitvami.

Vzorec	Ponovitev 1		Ponovitev 2		Ponovitev 3	
	Masa vzorca [g]	Relativna razlika mase med ponovitvijo 1 in 2 [%]	Masa vzorca [g]	Relativna razlika mase med ponovitvijo 2 in 3 [%]	Masa vzorca [g]	Relativna razlika med ponovitvijo 1 in 3 [%]
FOP03-03	31,37	2,71	30,52	3,18	29,55	5,80
FOP03-05	32,62	3,59	31,45	2,19	30,76	5,70
FOP03-07	44,88	0,25	44,77	1,83	43,95	2,07

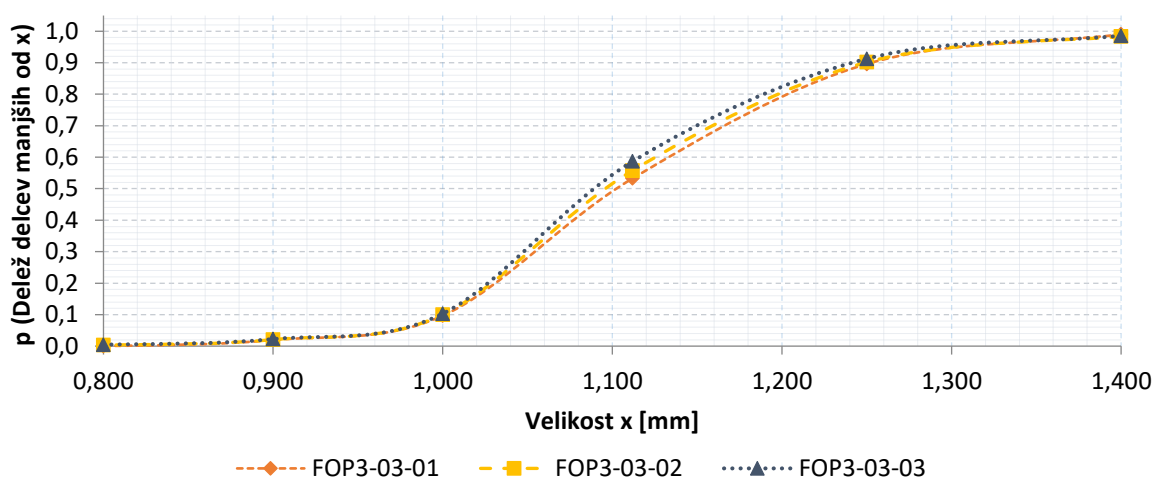


Slika 23: Histogrami treh ponovitev sejalnih analiz eksperimenta FOP3 pri masnem nanosu 3 % (levi histogram), 5 % (sredinski histogram) in 7 % (desni histogram)



Slika 24: Kumulativni prikaz treh ponovitev sejalne analize vzorca FOP3-03.

Kot je razvidno iz Slike 24, delež pelet, ki so ostale na sitih večjih od sit z velikostjo odprtine 1,120 mm, pada. Delež pelet na sitih z odprtinami 1,000 mm in 0,900 mm pa narašča. Trend lahko opazimo pri vseh treh vzorcih. Razlika med ponovitvami za vzorec FOP3-03, kjer je bila sprememba mase največja (5,8 % med prvo in zadnjo ponovitvijo) je opazna tudi iz kumulativnega prikaza na Sliki 24, kjer se porazdelitvena krivulja pomika v levo ob vsaki ponovitvi. Zaradi neznanih sprememb med ponovitvami smo v nadaljevanju upoštevali le prvotno meritev vsakega vzorca. Kumulativen prikaz porazdelitev velikosti le prve ponovitve za vzorec FOP3 pri masnem nanosu 3 %, 5 % in 7 % je prikazan na Sliki 25.



Slika 25: Kumulativni prikaz rezultatov sejalnih analiz vzorca FOP3 pri 3 %, 5 %, in 7 % masnega nanosa.

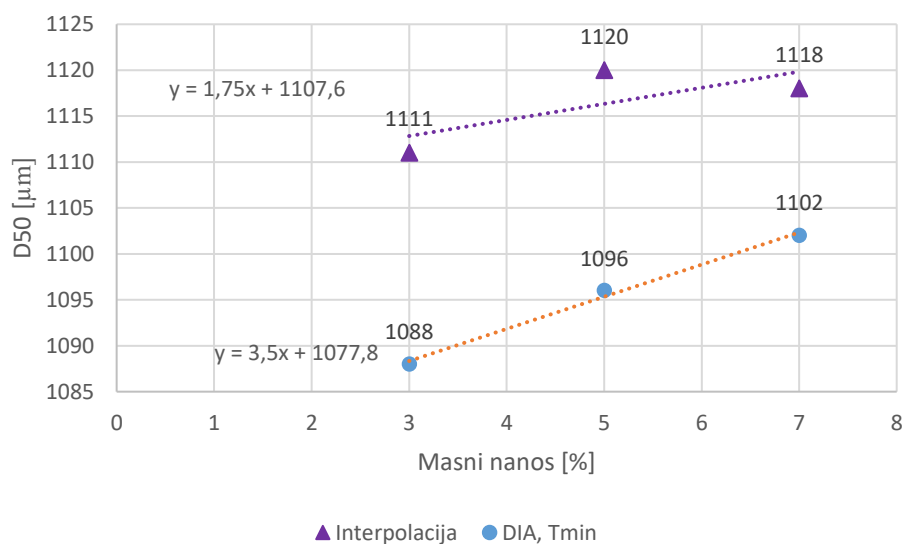
4.2.3.1 Izračun debeline filmske obloge s pomočjo interpolacije

Interpolacija 10., 50. in 90. percentila z rezultati sejalnih analiz vzorcev eksperimenta FOP pri 3 %, 5 % in 7 % masnega nanosa je bila opravljena z rezultati prve ponovitve. Rezultati skupaj z rezultati dinamične slikovne analize so prikazani v Preglednici XXI. Za parameter velikosti smo izbrali T_{\min} , ki po proizvajalčevih trditvah Camsizerja najboljše korelira s sejalno analizo.

Preglednica XXI: Rezultati interpolacije sejalne analize in dinamične slikovne analize (T_{\min}) v 10., 50. in 90. percentilu vzorcev FOP3 s 3 %, 5 % in 7 % masnega nanosa

Percentil	FOP3-03 [μm]		FOP3-05 [μm]		FOP3-07 [μm]	
	Interpolacija	DIA T_{\max}	Interpolacija	DIA T_{\max}	Interpolacija	DIA T_{\max}
10.	1001	947	965	955	1004	960
50.	1111	1088	1120	1096	1118	1102
90.	1254	1238	1295	1246	1282	1252

Rezultati 50. percentila so pri vzorcu FOP3-07 manjši od vzorca FOP3-05, kar je v nasprotju s pričakovanji in rezultati dinamične slikovne analize. Največja absolutna razlika med rezultati interpolacije in dinamične slikovne analize za D10 znaša 54 μm , za D50 24 μm in za D90 49 μm , kar nakazuje na korelacijo med metodami (Slika 26).



Slika 26: Grafični prikaz velikosti 50. percentila za vzorce eksperimenta FOP3 s 3 %, 5 % in 7 % masnim nanosom pridobljenih s interpolacijo sejalne analize (vijolično) in DIA T_{\min} (modro).

Z metodo linearne regresije smo, kljub pomanjkljivosti metode, izračunali teoretični prirast debeline obloge s 50. percentilom interpolacije na 8 % masnega nanosa (Slika 26). Izračunana

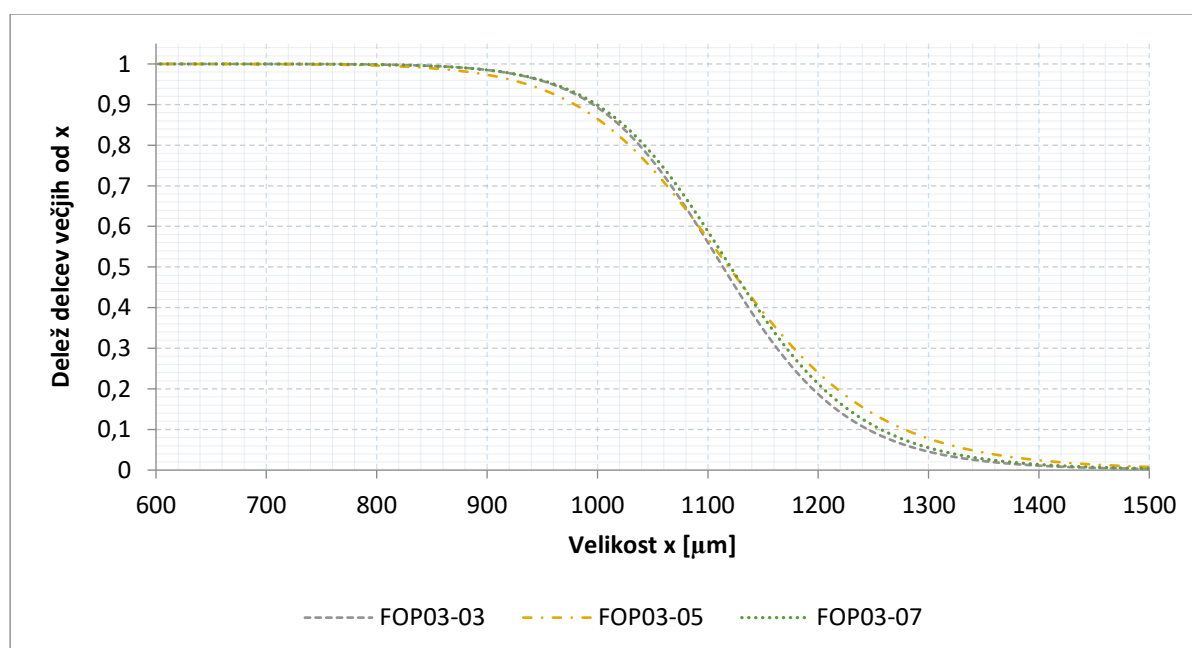
debelina je znašala 7 μm . Izračun z isto metodo z rezultati DIA istih vzorcev daje debelino 14 μm , izračun z modelom pa 15 μm . Izračun debeline s podanimi koeficienti linearne regresije na Sliki 26 je potrebno razpoloviti, saj slika prikazuje premer delcev, debelino pa računamo iz polmera.

4.2.3.2 Prileganje logistične funkcije

Prileganje logistične porazdelitve v 10., 50. in 90. percentilu vzorcev eksperimenta FOP pri 3 %, 5 % in 7 % masnega nanosa je bilo opravljeno z rezultati prve ponovitve sejalne analize. Rezultati skupaj z rezultati dinamične slikovne analize so prikazani v Preglednici XXI. Za parameter velikosti smo izbrali $T_{e_{min}}$, ki po proizvajalčevih trditvah najboljšo korelira s sejalno analizo. Percentili so zaradi samega programa za prileganje prikazani kot »oversize« (Slika 27) in ne »undersize« kot v drugih poglavjih, zato jih nismo vključili. Ker je 50. percentil, ki ga uporabljamo za izračun debeline obloge v obeh primerih enak, podatkov nismo transformirali v undersize.

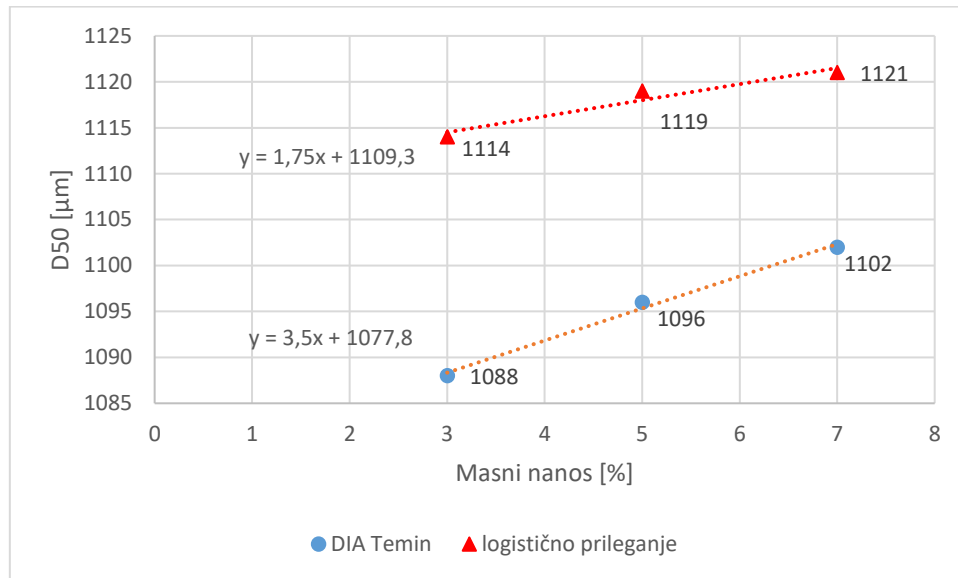
Preglednica XXII: Rezultati sejalne analize s prileganjem logistične porazdelitve in dinamične slikovne analize ($T_{e_{min}}$) 50. percentilu eksperimenta FOP3 vzorcev s 3 %, 5 % in 7 % masnega nanosa

Vzorec	FOP3-03	FOP3-05	FOP3-07
D50 Prilegane logistične porazdelitve [μm]	1114	1119	1121
D50 DIA $T_{e_{min}}$ [μm]	1088	1096	1102



Slika 27: »Oversize« kumulativni prikaz prileganih logističnih porazdelitev za vzorce FOP3 s 3 %, 5 % in 7 %

Maksimalna absolutna razlika med rezultati pri D50 zanaša 26 μm pri vzorcu FOP3-03, kar nakazuje na boljšo korelacijo med metodama v primerjavi z interpolacijo. Za razliko od interpolacije lahko pri podatkih prileganja vidimo pričakovano naraščanje velikosti v 50. percentilu delcev z masnim nanosom obloge (Slika 28). To nakazuje, da je prileganje z logistično porazdelitvijo primernejše od enostavne interpolacije za izračun velikosti.



Slika 28: Grafični prikaz velikosti 50. percentila za vzorce eksperimenta FOP3 s 3 %, 5 % in 7 % masnim nanosom pridobljenih s prileganjem logistične porazdelitve (modro) in DIA Te_{min} (rdeče).

Z metodo linearne regresije smo, kljub pomanjkljivosti metode, izračunali teoretični prirast debeline obloge s 50. percentilom prilegane logistične porazdelitve na 8 % masnega nanosa (Slika 28). Izračunana debelina je znašala 7 μm . Izračun z isto metodo z rezultati DIA istih vzorcev daje debelino 14 μm , izračun z modelom pa 15 μm . Izračun debeline s podanimi koeficienti linearne regresije na Sliki 28 je potrebno razpoloviti, saj slika prikazuje premer delcev, debelino pa računamo iz polmera.

Nenatančnost rezultatov sejalne analize pridobljenih s interpolacijo in s prileganjem logistične porazdelitve lahko pripišemo premajhnemu številu sit v katerem je največji delež pelet (~90% vseh pelet ostane na največjih štirih sitih). Prav tako k napaki prispeva sama toleranca odprtih sit, ki po ASTM standardu znaša 10% (za manjša sita celo več). Z enostavnim preračunom lahko vidimo, da je že sama toleranca odprtih sit večja od razlike debeline pelet, ki jo želimo izmeriti. K napaki še dodatno prispeva starost sit, ki se z uporabo obrabljajo. Analize bi bilo smiselno ponoviti z večimi siti v danem območju, novejšimi siti in elektroformiranimi siti. Razvidno je, da sejalna analiza ni primerna za oceno debeline filmske obloge. Kljub vsem

pomanjkljivostim je za grobo oceno velikosti delcev sejalna analiza z interpolacijo rezultatov primerljiva DIA.

4.2.4 Laserska difraktometrija

Meritve z lasersko difraktometrijo so bile opravljene v suhi in mokri celici z vzorci eksperimenta FOP3 pri 3 %, 5 % in 7 % masnem nanosu.

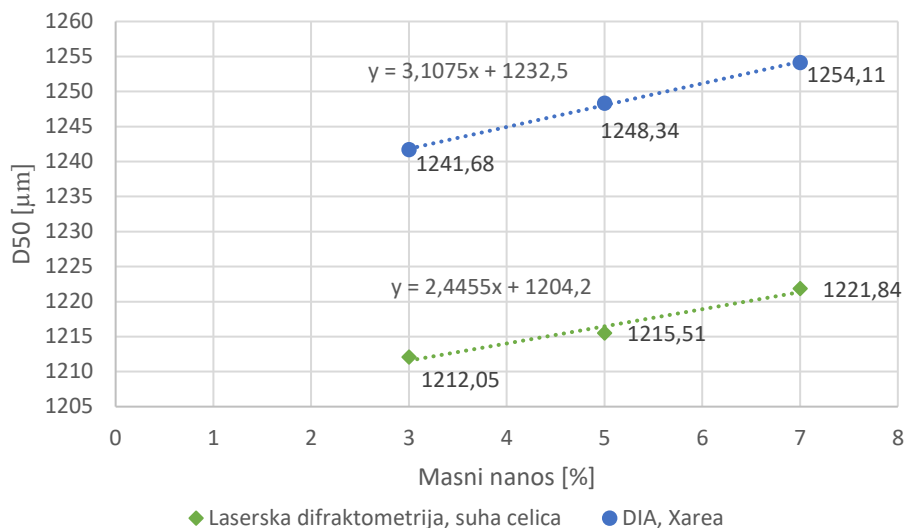
4.2.4.1 Suha celica

Povprečni rezultati dveh ponovitev 10., 50. in 90. percentila so skupaj z rezultati DIA prikazani v Preglednici XXIII. DIA rezultati so prikazani s povprečno velikostjo v posameznem percentilu s parametrom velikosti X_{area} , ki bi naj zaradi samega principa delovanja laserske difraktometrije najboljše korelirala. Analizirali smo ~5 g vzorce.

Preglednica XXIII: Rezultati povprečne velikosti 10., 50. in 90. percentila meritev vzorca FOP3 s suho celico in DIA rezultati s parametrom velikosti X_{area} pri masnem nanosu obloge 3 %, 5 % in 7 %.

Vzorec		D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
FOP3-03	Povprečje	995,36	1212,05	1513,85
	DIA X_{area}	1038,03	1241,68	1429,39
FOP3-05	Povprečje	995,86	1215,51	1522,08
	DIA X_{area}	1047,05	1248,34	1434,81
FOP3-07	Povprečje	999,92	1221,84	1529,59
	DIA X_{area}	1051,53	1254,11	1440,76

Vrednosti v 50. percentilu naraščajo z naraščajočim deležem masnega nanosa filmske obloge. Velikosti v 10. in 50. percentilu so nižje od DIA, v 90. percentilu pa višje. Maksimalna absolutna razlika v 10. percentilu znaša 52 μm , v 50. percentilu 33 μm in v 90. percentilu 89 μm . Iz majhnih absolutnih razlik v 50. percentilu med SIA in DIA ter enakih trendov lahko sklepamo na dobro korelacijo (Slika 29).



Slika 29: Grafični prikaz povprečnih rezultatov 50. percentila suhe celice laserske difraktometrije (modro) in dinamične slikovne analize (zeleno) s parametrom velikosti X_{area} za vzorce eksperimenta FOP3 pri masnem nanosu 3 %, 5 % in 7 %.

S pomočjo linearne regresije (Slika 29) smo v 50. percentilu izračunali končno debelino obloge z 8 % masnim nanosom in dobili rezultat 9,78 μm . Izračun z isto metodo z rezultati DIA parametra velikosti X_{area} istih vzorcev daje debelino 12,43 μm , izračun z modelom s parametrom velikosti X_{area} pa 13,60 μm . Menimo, da bi se rezultatu lahko veliko bolj približali, če bi se meritev lotili z enako metodologijo postavitve modela kot pri dinamični slikovni analizi. Izračun debeline s podanimi koeficienti linearne regresije na Sliki 29 je potrebno razpoloviti, saj slika prikazuje premer delcev, debelino pa računamo iz polmera.

Slabost suhe celice je terciarno vzorčenje. Ker smo moč vibracij dozirne drče povečevali tekom meritve za doseganje primerne obskuracije, smo izgubljali pelete. Možnost optimizacije doziranja vzorca bi lahko vodila v boljše rezultate. Za potrjeno korelacijo samih meritev z DIA pa bi bilo potrebno narediti analize na obeh napravah z delci pravilnejših oblik v različnih velikostnih območjih. Metoda laserske difraktometrije s suho celico bi se z nadaljnjimi eksperimenti lahko izkazala za primerljivo metodo z DIA in tako primerna za merjenje filmske debeline obloge.

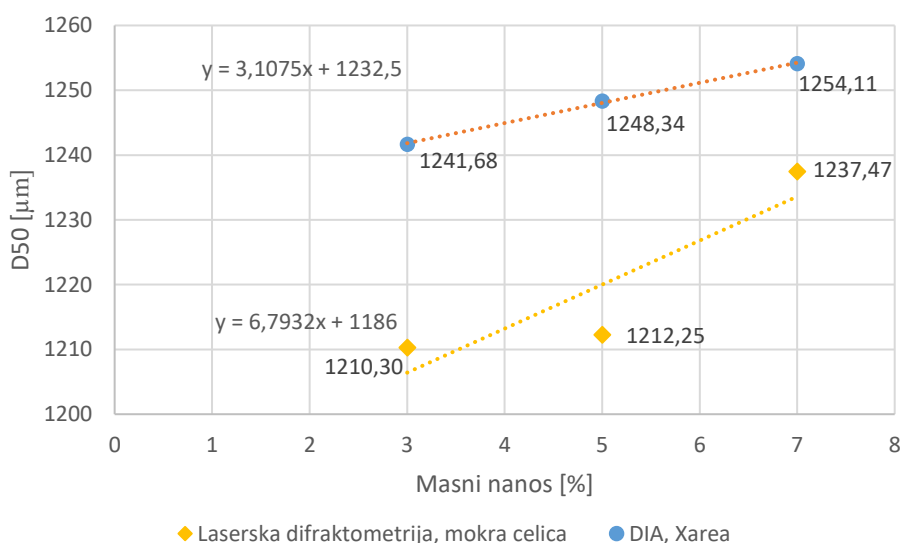
4.2.4.2 Mokra celica

Povprečni rezultati 10., 50. in 90. percentila so skupaj z rezultati DIA prikazani v Preglednici XXIV. DIA rezultati so prikazani s povprečno velikostjo dveh ponovitev v posameznem percentilu s parametrom velikosti X_{area} , ki bi naj zaradi samega principa delovanja laserske difraktometrije najboljše korelirala. Analizirali smo ~2,5 g vzorce.

Preglednica XXIV: Povprečni rezultati 10., 50. in 90. percentila meritev vzorcev eksperimenta FOP3 z mokro celico in povprečni DIA rezultati s parametrom velikost X_{area} pri masnem nanosu obloge 3%, 5% in 7%.

Vzorec		D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
FOP3-03	Povprečje	1001,57	1210,30	1476,84
	DIA X_{area}	1038,03	1241,68	1429,39
FOP3-05	Povprečje	1003,06	1212,25	1449,41
	DIA X_{area}	1047,05	1248,34	1434,81
FOP3-07	Povprečje	1012,82	1237,47	1540,91
	DIA X_{area}	1051,53	1254,11	1440,76

Rezultati ponovitev meritev z mokro celico izkazujejo večjo razpršenost v primerjavi s suho, vendar je le-to še zmeraj majhno. Maksimalna absolutna razlika povprečij glede na rezultate DIA v 10. percentilu znaša 64 μm , v 50. percentilu 36 μm in v 90. percentilu 100 μm , kar primerljivo z rezultati meritev s suho celico. Razlike v 50. percentilu so razvidne tudi iz Slike 30.



Slika 30: Grafični prikaz rezultatov 50. percentila mokre celice laserske difraktometrije (rumeno) in DIA (modro) s parametrom velikosti X_{area} za vzorce eksperimenta FOP3 pri masnem nanosu 3 %, 5 % in 7 %.

Ker je trend večanja delcev z masnim nanosom filmske obloge jasno viden smo tudi tukaj, kljub temu, da so rezultat že na prvi pogled slabši kot pri suhi celici, s pomočjo linearne regresije v 50. percentilu izračunali končno debelino obloge z 8% masnim nanosom, ki znaša 27,17 μm . Izračun z isto metodo z rezultati DIA s parametrom velikosti X_{area} istih vzorcev daje debelino 12,43 μm , izračun z modelom s parametrom velikosti X_{area} pa 13,60 μm . Rezultat je več kot dva krat večji od obeh rezultatov dinamične slikovne analize in vrstičnega elektronskega

mikroskopa. Izračun debeline s podanimi koeficienti linearne regresije na Sliki 30 je potrebno razpoloviti, saj slika prikazuje premer delcev, debelino pa računamo iz polmera.

Tudi tukaj lahko nenatačnost pripišemo terciarnemu vzorčenju, saj ne moremo zagotoviti da se pomerijo pelete v vzorcu, ki v mokri celici krožijo mimo optične enote. Meritve bi lahko izboljšali z nadaljnjo optimizacijo kombinacij topila, ultrazvoka in časovne točke meritve po apliciranju vzorca. Z dodatnimi eksperimenti bi se lahko približali rezultatom dinamične slikovne analize, vendar menimo, da je za to aplikacijo suha celica boljša.

5 SKLEP

Namen magistrske naloge je bil določiti debelino filmske obloge pelet z dinamično slikovno analizo ter rezultate primerjati z drugimi uveljavljenimi metodami. Pri razvoju metodologije smo ugotovili:

- Dinamična slikovna analiza ima odlično ponovljivost.
- Različni parametri velikosti so močno odvisno od oblike analiziranih delcev. Za delce pravilnih oblik so razpršenosti rezultatov med parametri primerljive, medtem ko za delce nepravilnih oblik minimalni enodimenzijski parametri (minimalni premer tetive in minimalni Ferretov premer) izkazujejo najboljšo ponovljivost rezultatov. Sledi premer kroga ekvivalentne površine in maksimalni Ferretov premer. V istem vrstnem redu naraščajo tudi absolutne vrednosti velikosti.
- Za najboljšo tehniko sekundarnega vzorčenja pelet se je izkazal kanalni razdelilnik in vzorčenje s spatulo po mešanju. Vzorčenje s spatulo brez mešanja primarnega vzorca in deljenje na četrtine sta se izkazala za neprimerna.
- Velikost vzorca neposredno vpliva na statistično moč rezultatov analize. Z večanjem mase se razpršenost rezultatov manjša, kar je ključno pri določitvi filmske obloge pelete. Za oceno velikosti delcev se je izkazal že vzorec velikostnega razreda 200 mg. Za določitev debeline filmske obloge pelet pa se je za primernejšega izkazal vzorec z maso med 4 g in 10 g z relativnim standardnim odklikom ponovitev manjšim od 0,7 % v 10., 50. in 90. percentilu.
- Pristop k izračunu debeline z razliko polovice velikosti začetnih in končnih delcev ne upošteva napak primarnega vzorčenja in ni primeren za določitev debeline filmske obloge.
- Postavljen model prirasta nanosa na pelete upošteva napake primarnega vzorčenja, sekundarnega vzorčenja in napake ponovljivosti merilne naprave ter omogoča statistično podprt izračun debeline filmske obloge znotraj ali zunaj območja modela.
- K nezanesljivosti rezultatov dinamične slikovne analize in nadaljnjih izračunov največ doprinese napaka primarnega vzorčenja, ki jo lahko minimaliziramo z dobro vzorčevalno prakso.

Rezultate velikosti metode dinamične slikovne analize smo primerjali z drugimi uveljavljenimi metodami za določanje velikosti delcev:

- Sejalna analiza se je izkazala za primerno metodo za oceno velikosti delcev in je pokazala korelacijo z rezultati dinamične slikovne analize. Za oceno debeline filmske obloge ni primerna saj so že dovoljene tolerance odprtih večje od razlik v debelini, ki jih želimo izmeriti. Obdelava primarnih podatkov z ujemanjem z logistično porazdelitvijo se je izkazala za primernejšo od interpolacije.
- S statistično analizo smo pokazali pomanjkljivosti in nereprezentativnost rezultatov velikosti pelet izmerjenih z vrstičnim elektronskim mikroskopom. Kljub temu je metoda služila potrditvi modela dinamične slikovne analize.
- Statična slikovna analiza se je izkazala za dobro metodo določanje velikosti delcev, če ni na voljo naprednejših merilnih naprav. Največja pomanjkljivost je statičnost delcev med meritvijo in posledična izguba informacij. Za izračun debeline filmske obloge ni primerna.
- Rezultati laserske difraktometrije so se od primerjalnih metod izkazali za najbolj podobne rezultatom dinamične slikovne analize. Za meritve pelet je suha celica primernejša. Izračun debeline filmske obloge bi bil možen z modelnim pristopom razvitim za dinamično slikovno analizo.
- Za podrobnejšo primerjavo metod bi bilo smiselno ponoviti eksperimente z več vzorci in z delci pravilnejših oblik.

Z rezultati magistrske naloge smo pokazali, da je določanje debeline filmske obloge pelet z dinamično slikovno analizo z vzorci pridobljenimi z načeli dobre vzorčevalne prakse in računskim modelom statistično zanesljivo in izvedljivo.

6 LITERATURA

1. Deb R, Ahmed AB. PELLETS AND PELLETIZATION TECHNIQUES: A CRITICAL REVIEW. *International Research Journal of Pharmacy* 2016; 4(4): 90–95
2. Kandukuri JM, Allenki V, Eaga CM, Keshetty V, Jannu K. Pelletization Techniques for Oral Drug Delivery. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research* 2009; 1(2): 63–70
3. Aulton ME ed. *Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines*. 3rd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier, 2007: 124
4. Koester M, Thommes M. New Insights into the Pelletization Mechanism by Extrusion/Spheronization. *AAPS PharmSciTech* 2010; 11(4): 1549–1551
5. SUPAC: Manufacturing Equipment Addendum Guidance for Industry. US Food and Drug Administration. 2014:
<https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm346049.pdf> (21.11.2018)
6. Lavanya K, Senthil V, Rathi V. PELLETTIZATION TECHNOLOGY: A QUICK REVIEW. *IJPSR* 2011(6): 1337–1355
7. Gupta AM, Shivhare UD, Suruse PB. Different Aspects of Pellets Formulation and their Evaluation. *ISSN* 2015(4): 331–336
8. Rajabi-Siahboomi AR ed. *Multiparticulate Drug Delivery: Formulation, Processing and Manufacturing*. New York, NY: Springer, 2017: 30 - 63
9. Ilić I, Kerč J. Tabletiranje obloženih pelet - včnotne farmacevtske oblike. *Farmacevstki vestnik* 2009; 2009(5): 271–277
10. Wurster Fluid Bed Coating: <https://www.coatingplace.com/services/wurster-fluid-bed-coating.html> (9.11.2018)
11. Park K. CAMSIZER Method Development. Horiba 2013:
http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/PSA/Webinar_Slides/TR018.pdf (1.12.2018)
12. Merkus HG. *Particle Size Measurements: Fundamentals, Practice, Quality*. New York Springer, 2009: 1 - 12, 13 - 42, 43 - 73, 195 - 218
13. Yu W, Hancock BC. Evaluation of dynamic image analysis for characterizing pharmaceutical excipient particles. *International Journal of Pharmaceutics* 2008; 361(1): 150–157
14. Oman Kadunc N, Šibanc R, Dreu R, Likar B, Tomažević D. In-line monitoring of pellet coating thickness growth by means of visual imaging. *International Journal of Pharmaceutics* 2014; 470(1–2): 8–14
15. Zupan J, Brodnjak-Vončina D, Veber M. Kemometrija in obdelava eksperimentalnih podatkov. Ljubljana: Kemijski inštitut : Inštitut Nove revije, Zavod za humanistiko, 2009: 19 - 47, 51 - 70, 75 - 97
16. Li M, Wilkinson D, Patchigolla K. Comparison of Particle Size Distributions Measured Using Different Techniques. *Particulate Science and Technology* 2005; 23(3): 265–284
17. Bouwman AM, Bosma JC, Vonk P, Wesselingh J (Hans. A, Frijlink HW. Which shape factor(s) best describe granules? *Powder Technology* 2004; 146(1–2): 66–72
18. Gamble JF, Tobyn M, Hamey R. Application of Image-Based Particle Size and Shape Characterization Systems in the Development of Small Molecule Pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2015; 104(5): 1563–1574
19. Petersen L, Dahl CK, Esbensen KH. Representative mass reduction in sampling—a critical survey of techniques and hardware. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 2004; 74(1): 95–114

20. Petersen L, Minkkinen P, Esbensen KH. Representative sampling for reliable data analysis: Theory of Sampling. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 2005; 77(1–2): 261–277
21. International Organization for Standardization: ISO14488:2007
22. Chen J, Scientific H, Beckmann G, Technology R. Particle Characterisation with Dynamic Image Analysis:
http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/PSA/Webinar_Slides/AP045.pdf (7.12.2018)
23. Gert Beckmann. Camsizer XT: the latest in Dynamic Image Analysis. HORIBA 2011:
<http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/PSA/TE015.pdf> (7.12.2018)
24. Retsch Technology:
http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/PSA/CAMSIZER_us_bro.pdf (7.12.2018) [brošura]
25. Park K, Scientific H. Digital Image Analysis & Sugar Spheres. HORIBA:
http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/PSA/Webinar_Slides/AP037.pdf (7.12.2018)
26. Beckmann G. Camsizer XT: the latest in Dynamic Image Analysis. HORIBA 2011:
<http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/PSA/TE015.pdf> (7.12.2018)
27. ImageJ: Auto Threshold. 2018: https://imagej.net/Auto_Threshold (5.12.2018)
28. Malvern Panalytical: Mastersizer 3000:
<https://www.malvernpanalytical.com/en/products/product-range/mastersizer-range/mastersizer-3000> (1.12.2018)
29. Scheibelhofer O, Besenhard MO, Piller M, Khinast JG. Comparing particle size distributions of an arbitrary shape. *Powder Technology* 2016; 294: 134–145
30. Czajkowska M, Sznitowska M, Kleinebudde P. Determination of coating thickness of minitables and pellets by dynamic image analysis. *International Journal of Pharmaceutics* 2015; 495(1): 347–353
31. Minkkinen P. Practical applications of sampling theory. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 2004; 74(1): 85–94
32. Allen T. *Powder Sampling and Particle Size Determination*. Amsterdam: Elsevier, 2003: 43
33. Možina M, Tomažević D, Leben S, Pernuš F, Likar B. Digital imaging as a process analytical technology tool for fluid-bed pellet coating process. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2010; 41(1): 156–162
34. Vigneau E, Loisel C, Devaux MF, Cantoni P. Number of particles for the determination of size distribution from microscopic images. *Powder Technology* 2000; 107(3): 243–250
35. Souza DOC, Menegalli FC. Image analysis: Statistical study of particle size distribution and shape characterization. *Powder Technology* 2011; 214(1): 57–63
36. Avalle P, Pollitt MJ, Bradley K, Cooper B, Pearce G, Djemai A, Fitzpatrick S. Development of Process Analytical Technology (PAT) methods for controlled release pellet coating. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2014; 87(2): 244–251
37. Heinicke G, Matthews F, Schwartz JB. The Effects of Substrate Size, Surface Area, and Density on Coat Thickness of Multi-Particulate Dosage Forms. *Pharmaceutical Development and Technology* 2005; 10(1): 85–96
38. Wang W. Image analysis of particles by modified Ferret method — best-fit rectangle. *Powder Technology* 2006; 165(1): 1–10