

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

INES TURK

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVIT MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJA

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO



INES TURK

**VPLIV POMOŽNIH SNOVI IN PROCESNIH PARAMETROV NA
REOLOŠKE LASTNOSTI GELA KSANTANA**

**THE INFLUENCE OF EXCIPIENTS AND PROCESS PARAMETERS
ON THE RHEOLOGICAL PROPERTIES OF THE XANTHAN GEL**

ENOVIT MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJA

Ljubljana, 2016

Magistrsko nalogu sem opravljala v Leku, farmacevtski družbi d. d., v Razvojnem centru Slovenija, na področju Farmacevtska tehnologija pod mentorstvom prof. dr. Janeza Kerča, mag. farm., in somentorstvom dr. Mihe Homarja, mag. farm.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko nalogu samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Janeza Kerča, mag. farm., in somentorstvom dr. Mihe Homarja, mag. farm.

Ines Turk

KAZALO VSEBINE

KAZALO SLIK	VI
KAZALO PREGLEDNIC	VII
POVZETEK	VIII
ABSTRACT	IX
SEZNAM OKRAJŠAV	X
1 UVOD	1
1.1 SUSPENZIJE	1
1.2 KSANTAN	4
1.3 REOLOGIJA.....	6
1.3.1 <i>Definicije reoloških parametrov</i>	6
1.3.2 <i>Reološka razdelitev sistemov</i>	7
1.3.3 <i>Viskoelastične lastnosti snovi</i>	8
1.4 NAČRTOVANJE EKSPERIMENTOV – DOE (DESIGN OF EXPERIMENTS)	14
2 NAMEN DELA	17
3 MATERIALI IN METODE	18
3.1 MATERIALI.....	18
3.1.1 <i>Ksantan</i>	18
3.1.2 <i>Titanov dioksid</i>	18
3.1.3 <i>Monohidrat citronske kisline</i>	18
3.1.4 <i>Natrijev citrat dihidrat</i>	18
3.1.5 <i>Glucidex 39</i>	19
3.1.6 <i>Kolliphor RH40</i>	19
3.1.7 <i>Polisorbat 80</i>	19
3.1.8 <i>Simetikon</i>	20
3.2 NAPRAVE.....	20
3.3 METODE.....	20
3.3.1 <i>Razvijanje metode sedimentiranja</i>	20
3.3.2 <i>Razvijanje metode redispersergiranja</i>	21
3.3.3 <i>Izdelava vzorcev po eksperimentalnem načrtu</i>	21
3.3.4 <i>Reološke metode</i>	26
4 REZULTATI IN RAZPRAVA	28
4.1 RAZVIJANJE METODE SEDIMENTIRANJA	28
4.1.1 <i>Centrifugiranje</i>	28
4.1.2 <i>Centrifugiranje z barvilom</i>	34
4.2 RAZVIJANJE METODE REDISPERSERGIRANJA.....	35
4.2.1 <i>Redispergiranje z vibracijskim mešalnikom</i>	35
4.2.2 <i>Redispergiranje z ultrazvokom</i>	36
4.2.3 <i>Povečanje deleža titanovega dioksida in redispergiranje z vibracijskim mešalnikom</i>	37
4.3 IZDELAVA VZORCEV PO EKSPERIMENTALNEM NAČRTU	39

4.4 REOLOŠKO VREDNOTENJE.....	40
4.5 VREDNOTENJE SEDIMENTACIJE NA OSNOVI DoE	48
5 SKLEP	56
6 LITERATURA	58

KAZALO SLIK

SLIKA 1: STRUKTURA KSANTANA	4
SLIKA 2: SLIKOVNI PRIKAZ PRIDOBIVANJA SPODNJEGA IN ZGORNJEGA DELA VZORCA	29
SLIKA 3: SLIKOVNI PRIKAZ PRIDOBIVANJA SEDIMENTA IZ VZORCEV XAN001, XAN002_N1 IN XAN003_N16 Z IZPIRANJEM Z VODO	31
SLIKA 4: GRAFIČNI PRIKAZ PARAMETROV (ELASTIČNI MODUL, VISKOZNI MODUL, VISKOZNOST, TOČKA KRIŽANJA, NAKLONA PRI OSCILACIJSKEM TESTU ZA ELASTIČNI IN VISKOZNI MODUL).....	43
SLIKA 5: GRAFIČNI PRIKAZ VPLIVA PREUČEVANIH PARAMETROV NA ELASTIČNI MODUL (G').....	44
SLIKA 6: GRAFIČNI PRIKAZ VPLIVA PROUČEVANIH PARAMETROV NA VISKOZNI MODUL (G'')	45
SLIKA 7: GRAFIČNI PRIKAZ VPLIVA PROUČEVANIH PARAMETROV NA VISKOZNOST	45
SLIKA 8: GRAFIČNI PRIKAZ VPLIVA PROUČEVANIH PARAMETROV NA TOČKO KRIŽANJA (CROSSOVER)	46
SLIKA 9: GRAFIČNI PRIKAZ VPLIVA PROUČEVANIH PARAMETROV NA NAKLON ELASTIČNEGA MODULA PRI FREKVENČNI METODI (KG')	47
SLIKA 10: GRAFIČNI PRIKAZ VPLIVA PROUČEVANIH PARAMETROV NA NAKLON VISKOZNEGA MODULA PRI FREKVENČNI METODI (KG'').....	48
SLIKA 11: GRAFIČNI PRIKAZ POVPREČNIH MAS SEDIMENTOV Z INTERVALI ZAUPANJA.....	51
SLIKA 12: LEVENOV TEST ZA SEDIMENTE PO DVEH OZ. TREH DNEH SUŠENJA NA OSNOVI DoE EKSPERIMENTOV	52
SLIKA 13: BOXPLOT DIAGRAM ZA SEDIMENTE PO DVEH OZ. TREH DNEH SUŠENJA NA OSNOVI DoE	53
SLIKA 14: ENOSMERNI ANOVA TEST ZA SEDIMENTE PO DVEH OZ. TREH DNEH SUŠENJA NA OSNOVI DoE	54

KAZALO PREGLEDNIC

PREGLEDNICA 1: DELITEV NE-NEWTONSKIH SISTEMOV	8
PREGLEDNICA 2: TIP DEJAVNIKOV IN NJIHOVE MEJE	22
PREGLEDNICA 3: PRIDOBJLJENE VREDNOSTI ZA POMOŽNE SNOVI IN PROCESNE PARAMETRE IZ PROGRAMA MODDE	23
PREGLEDNICA 4: MASE DODANIH SPOJIN V GRAMIH IN POGOJI IZDELAVE VZORCEV	25
PREGLEDNICA 5: MASE VZORCA (XAN001) IN POGOJI CENTRIFUGIRANJA	28
PREGLEDNICA 6: MASE VZORCEV (XAN001, XAN002_N1 IN XAN003_N16) S POGOJI CENTRIFUGIRANJA	29
PREGLEDNICA 7: MASE VZORCEV (XAN001, XAN002_N1 IN XAN003_N16) S POGOJI CENTRIFUGIRANJA, TER MASE PRIDOBJLJENIH SEDIMENTOV V RAZLIČNIH ČASOVNIH OBDOBJIH (TAKOJ, SUŠENIH ENO NOČ, SUŠENIH 3 DNI)	30
PREGLEDNICA 8: MASE VZORCEV (XAN001 , XAN002_N1 IN XAN003_N16) IN DODANE VODE S POGOJI CENTRIFUGIRANJA, TER MASE PRIDOBJLJENIH SEDIMENTOV V RAZLIČNIH ČASOVNIH OBDOBJIH (TAKOJ, SUŠENIH ENO NOČ, SUŠENIH 3 DNI)	31
PREGLEDNICA 9: MASE VZORCEV (XAN001, XAN002_N1 IN XAN003_N16) IN PRIDOBJLJENIH SEDIMENTOV (BREZ CENTRIFUGIRANJA).....	32
PREGLEDNICA 10:: MASE VZORCEV (XAN001, XAN001A, XAN002_N1 IN XAN003_N16) S POGOJI CENTRIFUGIRANJA, TER MASE PRIDOBJLJENIH SEDIMENTOV – BREZ IZPIRANJA Z VODO	33
PREGLEDNICA 11: MASE VZORCEV (XAN001A, XAN002_N1 IN XAN003_N16) S POGOJI CENTRIFUGIRANJA, TER MASE PRIDOBJLJENIH SEDIMENTOV – Z IZPIRANjem Z VODO	34
PREGLEDNICA 12: MASE VZORCEV (XAN_N2 IN XAN_N16) S POGOJI CENTRIFUGIRANJA, REDISPERGIRANJA, TER MASAMI PRIDOBJLJENIH SEDIMENTOV	35
PREGLEDNICA 13: PRIMERJAVA MAS VZORCEV PO REDISPERGIRANJU Z VIBRACIJSKEM MEŠALNIKOM IN VZORCEV BREZ REDISPERGIRANJA	36
PREGLEDNICA 14: MASE VZORCEV (XAN_N1, XAN_N2, XAN_N3 IN XAN_N16) IN PRIDOBJLJENIH SEDIMENTOV, REDISPERGIRANIH Z ULTRAZVOKOM	37
PREGLEDNICA 15: PRIMERJAVA MAS VZORCEV PO REDISPERGIRANJU Z ULTRAZVOKOM Z VZORCI BREZ REDISPERGIRANJA.....	37
PREGLEDNICA 16: MASE VZORCA XAN001A+ TiO ₂ IN SEDIMENTOV S POGOJI CENTRIFUGIRANJA TER OPIS KATERE VZORCE SMO REDISPERGIRALI NA VIBRACIJSKEM MEŠALNIKOM	38
PREGLEDNICA 17: MASE VZORCEV (XAN_N1 + TiO ₂ IN XAN_N16 + TiO ₂) S POGOJI CENTRIFUGIRANJA, REDISPERGIRANJA TER MASAMI PRIDOBJLJENIH SEDIMENTOV	39
PREGLEDNICA 18: IZMERJENE REOLOŠKE VREDNOSTI VZORCEV GELA KSANTANA, PO EKSPERIMENTALNEM NAČRTU	41
PREGLEDNICA 19: MASE SEDIMENTOV TAKOJ PO ODLITJU SUPERNATANTA IN SUŠENJU ČEZ NOČ, 2 NOČI ALI ČEZ 3 DNI	49
PREGLEDNICA 20: POVPREČNE MASE SEDIMENTOV IN RSD-JI TAKOJ PO ODLITJU SUPERNATANTA IN SUŠENJU ČEZ NOČ, 2 NOČI ALI ČEZ 3 DNI	50

POVZETEK

Peroralne suspenzije so tekoče farmacevske oblike, sestavljene iz netopne dispergirane faze, ki je porazdeljena v disperznem mediju. Znano je, da so suspenzije termodinamsko nestabilni sistemi in težijo k sedimentaciji, zato je pomembno pri aplikaciji zagotoviti, da z blagim stresanjem ponovno dobimo homogeno porazdelitev delcev v mediju oziroma enakomeren odmerek.

V okviru magistrske naloge smo proučili vpliv različnih pomožnih snovi in procesnih parametrov na reološke lastnosti gela ksantana. Kot pomožne snovi smo uporabili citronsko kislino, natrijev citrat, polisorbat 80, Glucidex 39, Kolliphor RH40 ter simetikon.

Eksperimente smo načrtovali z metodo DoE s pomočjo programa MODDE. Naredili smo delni faktorski načrt z metodo rešetanja, da bi določili, kateri dejavnik ima največji vpliv in njihovo območje.

Ovrednotili smo tudi povezanost reoloških parametrov s posedanjem netopnih delcev v gelu ksantana. Poskušali smo razviti analizno metodo, ki bi omogočila hitro vrednotenje posedanja delcev, ter oceniti redisperzibilnost delcev v gelu. Kot model netopnih delecev smo uporabili titanov dioksid.

Ugotovili smo, da najustreznejše sedimente dobimo, če vzorce centrifugiramo pri 20.000 obratih/min 10 minut. Metode za redispergiranje vzorca nismo uspeli razviti zaradi velike variabilnosti v rezultatih. Glede na pridobljene sedimente in reološke parametre je vzorec z največ sestavinami (Xan_N16) značilno odstopal od ostalih. Od proučevanih parametrov sta imela največji vpliv na ocenjevane reološke lastnosti sladkor (Glucidex 39) in Kolliphor RH40.

ABSTRACT

Oral suspensions are liquid dosage forms consisting of an insoluble dispersed phase distributed in a dispersion medium. Suspensions are thermodynamically unstable and they tend to sediment, so it is important to ensure homogenous distribution and uniformity of dosage units by lightly shaking the suspension before application.

In the study, we evaluated the influence of different excipients (citric acid, sodium citrate, polisorbate 80, Glucidex 39, Kolliphor RH40, simethicone) and process parameters on rheological properties of xanthan gel.

Experiments were designed with the DoE method using the MODDE software. Fractional factorial design with a screening method was performed to identify the most important factors and their ranges.

We also evaluated the relationship between rheological parameters and the settlement of insoluble particles in xanthan gel.. We tried to develop a method that would enable us to quickly evaluate particle settlement and assess the redispersability of particles inside the gel. Titanium dioxide particles were used as model insoluble particles.

The most appropriate sediments were obtained by centrifugation of samples at 20,000 rpm for 10 minutes. The method of redispersion was not developed because of the large variability of results. Based on the obtained sediments and rheological parameters the sample with the most ingredients (Xan_N16) deviates significantly from the others. The sugar (Glucidex 39) and Kolliphor RH40 had the largest influence on rheological properties.

SEZNAM OKRAJŠAV

LVO	linearni viskoelastični odziv
G'	elastični modul (modul akumulacije energije, storage modulus) [Pa]
G''	viskozni modul (modul energetskih izgub, loss modulus) [Pa]
γ	strižna deformacija (shearing deformation) [%]
τ	strižna napetost (shear stress) [Pa]
$\dot{\gamma}$	strižna hitrost (shear rate) [s^{-1}]
η	viskoznost (viscosity) [Pas]
DoE	Design of Experiments
DE	dekstrozni ekvivalent
O/V	olje v vodi
o/min	obratov na minuto
MLR	metoda večkratne linearne regresije (Multiple Linear Regression)
RSD	relativna standardna deviacija (Relative standard deviation)
kG'	naklon elastičnega modula pri frekvenčnem testu
kG''	naklon viskoznega modula pri frekvenčnem testu

1 UVOD

Zdravilo je vsaka snov ali kombinacija snovi, za zdravljenje ali preprečevanje bolezni pri ljudeh ali živalih (1). Zdravilo v širšem pomenu besede je izdelek, namenjen zdravljenju, ki poleg ene ali več zdravilnih učinkovin, vsebuje tudi pomožne snovi. Zdravilna učinkovina pride do ciljnega mesta v telesu in tam zagotavlja želeni učinek. Prav tako pomemben del zdravila so pomožne snovi, ki nimajo zdravilnega učinka, lahko pa k temu pripomorejo. Uporabljamo jih za izboljšanje lastnosti zdravila, kot sta stabilnost in videz, za prikrivanje neprijetnega okusa, zaščito zdravilne učinkovine pred zunanjimi vplivi, izboljšanje biofarmacevtskih lastnosti ter za lažjo izdelavo zdravila. Namen izboljšav je, da bi bila farmacevtska oblika čim bolj sprejemljiva za pacienta (2, 3).

Zdravilna učinkovina s svojimi lastnostmi in načinom uporabe določa, v kateri farmacevtski obliki bo zdravilo. Poznamo trdne, poltrdne in tekoče farmacevtske oblike, ki omogočajo varno, natančno in preprosto uporabo zdravila. Zdravila najpogosteje zaužijemo peroralno v trdni (tablete, kapsule, zrnca) ali tekoči (raztopine, suspenzije, emulzije) obliki, da bi dosegli sistemsko ali manj pogosto lokalno delovanje v prebavnem traktu (2).

1.1 SUSPENZIJE

Disperzni sistem je sistem, v katerem je ena faza (notranja, dispergirana faza), porazdeljena v neprekinjenem ali disperznem mediju (zunanja faza). Glede na velikost delcev poznamo tri tipe disperznih sistemov:

- molekulske disperzije (< 1 nm),
- koloidne disperzije (1 nm - 500 nm),
- grobodisperzne sisteme (> 500 nm).

Tako notranja kot zunanja faza sta lahko v različnih agregatnih stanjih, npr. trdno-tekoče, trdno-plinasto, tekoče-tekoče ... (4)

Suspenzija je grobodisperzni sistem, v katerem so netopni trdni delci (notranja faza) porazdeljeni v tekočem mediju (zunanja faza). Večina suspendiranih delcev ima premer, večji od 0,1 µm, in v primeru, da je viskoznost diperzije nizka, nekateri delci pod mikroskopom kažejo Brownovo gibanje (4). Zaradi sile teže delci težijo k posedanju, kar lahko povzroča težave pri aplikaciji zdravil. Hitrost sedimentiranja sferičnih delcev opisuje Stokesova enačba:

$$v = \frac{2r^2(\rho_1 - \rho_2)g}{9\eta}$$

v ... hitrost sedimentacije [m/s]

r ... polmer delcev [m]

ρ_1 ... gostota dispergirane faze (delcev) [kg/m³]

ρ_2 ... gostota disperznega medija [kg/m³]

g ... gravitacijski pospešek [9,8 m/s²]

η ... viskoznost disperznega medija [Pa·s = kg·m⁻¹·s⁻¹]

Kot enačba prikazuje, lahko na več načinov vplivamo na hitrost sedimentacije (v); z večanjem gostote dispergirane faze (ρ_1) ali medija (ρ_2), z zmanjšanjem velikosti delcev (r) ali spremembo viskoznosti (η). V primeru, da sta viskoznost faze in medija enaki, do sedimentacije ne pride. Najbolj ugoden način za kontrolo sedimentacije je uporaba sredstev za zgoščevanje (tj. povečanje viskoznosti). Poleg prave izbire polimera za zgoščevanje so pomembne tudi reološke lastnosti polimernih raztopin. Zaželena je uporaba suspenzij, ki izkazujejo psevdoplastično obnašanje. V mirovanju take suspenzije ohranijo viskoznost in onemogočajo prehitro posedanje delcev, ob delovanju strižne sile lahko tečejo in sediment se z laskoto redispertgira (4, 5).

Suspenzija je termodinamsko nestabilen sistem zaradi velike površinske energije delcev. Kot vsak nestabilen sistem, tudi delci suspenzije težijo k energetsko stabilnejšem stanju in nižanju površinske energije, ki je prisotna na mejni površini. Z združevanjem delci zmanjšajo površinsko energijo in tako preidejo v stabilnejše stanje, ki se lahko pokaže kot flokulacija, flotacija, tvorba pogače (cementna) ali kot rast kristalov (5, 7).

FLOKULACIJA je proces, pri katerem se zaradi fizikalne nestabilnosti delci združujejo najpogosteje s šibkimi van der Waalsovimi silami v večje skupke (floklule). Nastali skupki se enotno usedajo na dno posode in tvorijo rahlo povezano usedlino. Zgornja plast

suspensije zaradi posedenih delcev postane bistra. Flokulacija je reverzibilen proces, ker usedlino z rahlim stresanjem redispergiramo (5).

FLOTACIJA je pojav, pri katerem delci izplavajo na površje zaradi slabega močenja delcev z disperznim medijem. Pojavlja se zaradi slabšega močenja hidrofobnih delcev, zaradi česar se na površino delca adsorbirajo molekule zraka namesto disperznega medija. Delci z adsorbiromi mehurčki zraka imajo manjšo gostoto kot disperzni medij ter posledično izplavajo na površje. Hidrofilne delce medij boljše moči in zato imajo manjšo tendenco vezanja mehurčkov zraka (6).

Nizka adhezija hidrofobnih praškastih materialov vodi k visoki medfazni napetosti med delci in disperznim medijem. Zaradi te napetosti je stični kot med trdno in tekočo fazo zelo visok. Z uporabo močila zmanjšamo medfazno napetost in stični kot, kar se kaže v boljšem močenju snovi. Močenje trdnih snovi opišemo s pomočjo Youngove enačbe:

$$\cos\theta = \frac{\gamma_{S/V} - \gamma_{S/L}}{\gamma_{L/V}}$$

θ ... stični kot

γ ... medfazna napetost med različnimi fazami; S/V (solid/vapor) trdna snov/para, S/L (solid/liquid) trdna snov/tekoča snov, L/V (liquid/vapor) tekoča snov/para.

Močila zmanjšajo $\gamma_{S/L}$ in $\gamma_{L/V}$ in zato zmanjšajo stični kot (7).

TVORBA POGAČE (cementa) je fizikalna nestabilnost, do katere prihaja, kadar dominirajo elektrostatske odbojne sile. Sistem je deflokuliran, delci počasi sedimentirajo in se medsebojno združujejo tako, da majhni delci zapolnijo prostore med večjimi in tako tvorijo gosto in čvrsto usedlino. Nastala usedlina je kompaktna in je ne moremo enostavno redispergirati kot v primeru flokulirane usedline. Če so delci dovolj majhni, zaradi naključnega Brownovega gibanja in medsebojnih trkov ne pride do združevanja delcev (4).

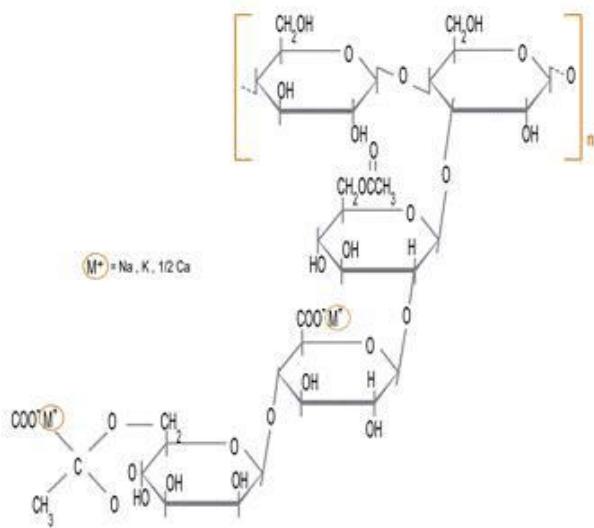
RAST KRISTALOV – Ostwaldova rast

Ostwaldova rast je pojav, pri kateri večji kristali rastejo na račun manjših in dosežejo termodinamsko bolj ugodno stanje. Manjši delci imajo večjo površinsko in prosto energijo od večjih. Ker sistem poskuša zmanjšati celotno energijo, se molekule na površini manjših delcev (energetsko neugodnejših) odcepijo in adherirajo na večje. Posledično se velikost manjših delcev zmanjša in večji nadaljujejo rast (7).

Suspenzije lahko uporabimo peroralno, lokalno na koži ali sluznici ter parenteralno za vnos netopnih učinkovin. Zelo priljubljene so pri pediatričnih in geriatričnih bolnikih, ki težje pogoltnjejo tableto ali kapsulo (4, 5). Netopne učinkovine vgrajujemo v suspenzijo, kadar bi raztpljanje učinkovine lahko ogrozila stabilnost in varnost zdravila (npr. manjša izpostavljenost hidrolizi in oksidaciji). Prav tako nam netopna oblika zdravilne učinkovine v suspenziji lahko omogoča prikrivanje neprijetnega okusa. Pri tabletah in kapsulah se mora učinkovina najprej sprostiti/raztopiti iz farmacevtske oblike, da bi prišlo do procesa absorpcije. Učinkovina v suspenziji je že v dispergirani obliki in se izognemo procesu razpada farmacevtske oblike. Homogeno porazdeljeni delci imajo večjo površino, kar velikokrat pospeši sam proces raztpljanja (8, 9). Netopno učinkovino tudi lahko vgradimo v suspenzijo za dosego nadzorovanega/zadržanega sproščanja učinkovine iz farmacevtske oblike (7).

1.2 KSANTAN

Ksantanali ksantanski gumi je naravni anionski heteropolisaharid, produkt fermentacije bakterije *Xanthomonas campestris*. Dve D-glukozi, dve D-manozi in D-glukuronska kislina sestavljajo ponavljajočo se primarno strukturo ksantana (**slika 1**).



Slika 1: Struktura ksantana (vir: 10)

Polovica terminalnih D-manoz ima povezano molekulo piruvata preko acetala med keto skupino piruvata in hidroksilnima skupinama na mestih 4 in 6. Manoze, ki so povezane na

osnovno verigo, vsebujejo acetilno skupino na mestu O-6. Osnovna veriga, podobna verigi celuloze, je sestavljena iz izmenjujočih se β -D-glukoze in anhidroglukoze, povezane z 1,4- β glikozidnimi vezmi (11, 12). Tako oblikovana struktura ščiti ksantan pred encimi, ki razgrajujejo ostale naravne polimere, kot je celuloza.

Ksantan je topen tako v hladni kot v topli vodi in pri tem daje zelo viskozno raztopino tudi pri manjših koncentracijah (1 %). Praviloma ni topen v organskih topilih, topen je v zmeseh z do 50 % organskega topila v zmesi/mešanici z vodo. Stabilen je v kislem in se nahaja najpogosteje v obliki soli z enovalentnimi ali dvovalentnimi ioni, kot so kalij, natrij, magnezij in kalcij (5).

Praviloma z večanjem strižne hitrosti viskoznost raztopine ksantana upada (izkazuje psevdoplastične lastnosti). Temperatura, koncentracija ksantana, koncentracija soli in pH so tudi eni od parametrov, ki vplivajo na viskoznost raztopine ksantskega gumija. Z naraščanjem temperature viskoznost upada; ta lastnost je popolnoma reverzibilna v območju od 10 do 80 °C. Viskoznost je tudi odvisna od temperature, pri kateri smo polimer raztpljali. Pri temperaturah do 40 °C viskoznost upada, med 40 in 60 °C narašča z naraščanjem temperature ter pri temperaturah nad 60 °C ponovno upada. Tako obnašanje predpisujejo konformacijskim spremembam v molekuli ksantana. Z večanjem koncentracije polimera ali koncentracije soli se tudi močno poveča viskoznost raztopine zaradi povečanih interakcij med polimernimi molekulami. Kadar presežemo koncentracijo soli nad 0,1 % (m/v) oz. 0,1 g/100 mL (%) je viskoznost neodvisna od koncentracije soli. Pri manjših koncentracijah polimera ob majhnem dodatku soli viskoznost rahlo upada. pH vrednost ima komajda opazen vpliv na viskoznost raztopine ksantana. Pri pH vrednosti nad 9 se ksantan deacetilira, medtem ko pri pH vrednosti, nižji od 3, izgubi acetilno in pirovično skupino. Deacetiliran kakor tudi depiruviziran ksantan ohranita podobne reološke lastnosti kot nativni ksantan (12). Pri daljšem shranjevanju izdelka s ksantanom je priporočljivo dodati konzervans zaradi možne mikrobiološke kontaminacije (5).

Uporaba ksantana je široka, od prehrambene industrije do farmacije. Uporabljamo ga v farmacevtskih oblikah za peroralno in dermalno aplikacijo ter v kozmetičnih izdelkih. Pri pripravi emulzij in suspenzij ima vlogo zgoščevala in stabilizatorja, kot pomožno snov ga uporabljamo za pripravo ogrodnih tablet s podaljšanim sproščanjem (11).

Zaradi anionske narave je ksantanski gumi inkompatibilien s kationskimi učinkovinami in konzervansi, ker pride do precipitacije (13).

1.3 REOLOGIJA

Reologija je interdisciplinarna veda o tokovnem obnašanju in preoblikovanju materiala (14). Več parametrov vpliva na to, kako se bo material obnašal ob delovanju sile, predvsem je odvisno od notranje strukture materiala, sile, ki vpliva na material, in zunanjih pogojev. Reometrija obravnava reološke lastnosti na osnovi deformacije tekočine pod vplivom sil. Reološke lastnosti merimo in določamo reološke modele z namenom, da ovrednotimo karakteristične strukturne lastnosti izhodnih snovi z namenom optimiranja sestave, interpretacije in kontrole laboratorijskih poskusov, za razvoj primernih proučevalnih metod, za kontrolo delovanja proizvodnih naprav in za kontrolo kakovosti produktov. Lastnosti merimo tako, da merimo napetost kot funkcijo strižne hitrosti, za določevanje elastičnosti pa tudi razlike v normalnih napetostih (14, 15). Reometrija obravnava reološke lastnosti na osnovi deformacije tekočine pod vplivom sil (14).

1.3.1 Definicije reoloških parametrov

Strižna deformacija (shearing deformation, γ)

Strižno defomacijo opišemo s modelom dveh vzporednih plošč, ki sta na razdalji h in med katere damo preiskovano snov. Zgornja plošča se giblje s silo F (strižna sila) in hitrostjo v , spodnja pa miruje. Stižna sila premakne zgornjo plast za določeno razdaljo s in kot φ . Pri tem zagotovimo laminaren tok in da je vzorec homogen in adheriran na obe plošči. Strižna deformacija predstavlja tangens kota deformacije telesa zaradi delovanja strižne sile in jo opišemo z naslednjo enačbo:

$$\gamma = \frac{s}{h} = \tan\varphi$$

Strižna napetost (shear stress, τ)

Strižna napetost je sila F v smeri x na povšino A . Enota je N/m^2 oziroma Pa :

$$\tau = \frac{F}{A} [N/m^2 = Pa]$$

Strižna hitrost (shear rate, $\dot{\gamma}$)

V modelu dveh paralelnih plošč, s premikanjem zgornje plasti s konstantno hitrostjo v smeri x , hitrost vsake sosednje plasti pri pogojih enostavnega striga linearne narašča glede na sosednjo. Strižna hitrost je odvod strižne deformacije po času:

$$\dot{\gamma} = \frac{d\gamma}{dt} = \frac{v_x}{h} [s^{-1}]$$

Viskoznost (viscosity, η)

Viskoznost se odraža kot notranji upor snovi proti drsenju oziroma deformaciji. V enačbi predstavlja premo sorazmernostni koeficient med strižno napetostjo in hitrostjo. To povezavo poznamo kot Newtonov zakon, ki velja pri idealnih tekočinah (15, 16) :

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} [Pa \cdot s]$$

1.3.2 Reološka razdelitev sistemov

V reologiji delimo sisteme na newtonske in nenewtonske. Lastnost newtonskih sistemov je ta, da je viskoznost odvisna le od temperature in tlaka. Pri nenewtonskih sistemih ni tako, viskoznost je odvisna od tokovnih pogojev ob konstantnem tlaku in temperaturi. Prav tako poznamo še časovno odvisne in neodvisne nenewtonske sisteme. Značilnost časovno neodvisnih je ta, da je viskoznost odvisna le od jakosti delovanja strižne sile, medtem ko se pri časovno odvisnih viskoznost spreminja s časom in smerjo delovanja striga ob konstantnih strižnih pogojih (15).

Bolj podrobno delitev nenewtonskih sistemov prikazuje **preglednica 1**. Viskoelastična tekočina se zaradi delovanja strižne sile lahko obnaša psevdoplastično, dilatantno, plastično, tiksotropno ali reopektično (14).

Preglednica 1: Delitev ne-Newtonskeih sistemov

časovno neodvisne tekočine	psevdoplastične	z večanjem strižne sile upada viskoznost
	dilatantne	z večanjem strižne napetosti narašča viskoznost
	plastične	tekočina steče šele tedaj, ko se preseže mejna napetost
časovno odvisne tekočine	tiksotropne	ob konstantni strižni sili, s časom viskoznost upada
	reopektične	ob konstantni strižni sili, s časom viskoznost narašča
	viskoelastične	ob konstantni strižni sili izkazujejo viskozno in elastično obnašanje hkrati

1.3.3 Viskoelastične lastnosti snovi

Viskoelastični sistemi istočasno izražajo viskozne in elastične lastnosti. Katera lastnost bo prevladovala, je odvisno od strižnih pogojev in trajanja striga. Med obremenitvijo sistem porabi del energije v obliki toplote zaradi viskoznega trenja, del energije pa shrani. Shranjeni del energije se po končanem delovanju strižnih sil porabi za obnovo sistema. Pri tekočinah je značilno, da prevladuje viskozna komponenta, pri trdnih pa elastična. V začetni fazi deformacije se sistem obnaša kot trdna snov, ki z naraščajočo obremenitvijo kaže lastnosti tekočine (14, 15).

Idealna ali newtonска tekočina je tekočina, pri kateri le temperatura in tlak vplivata na viskoznost in le-ta ni odvisna od tokovnih pogojev (14). Realne tekočine lahko v določenem območju strižnih hitrosti ali v določenem temperaturnem območju izkazujejo newtonsko obnašanje, saj imajo konstantno viskoznost. Z naraščajočo temperaturo viskoznost tekočine upada zaradi povečanega Brownovega gibanja osnovnih molekul oz. molekul tekočine. S porastom viskoznosti narašča tudi temperaturna občutljivost tekočine.

Idealno tekočino lahko ponazorimo z odzivom dušilke, ki se ob delovanju sile deformira ireverzibilno. Energija, ki je potrebna za deformacijo tekočine, se porabi v obliki toplote in povrnitev po prenehanju delovanja strižnih sil ni mogoča. Za idealno tekočino velja Newtonov zakon (strižna napetost je premo sorazmerna hitrosti deformacije).

Idealno tekočino opisuje enačba :

$$\tau_v = \eta \cdot \frac{d\gamma}{dt} = \eta \cdot \dot{\gamma}$$

τ_v ... viskozni del strižne napetosti [Pa]

η ... viskoznost [Pas]

$\dot{\gamma}$... strižna hitrost [s^{-1}]

Če damo tekočino med dve vzporedni plošči in zagotovimo laminaren tok med ploščama, bo pri dovolj majhni razdalji strižna hitrost neodvisna od reoloških lastnosti tekočine.

Za razliko od idealne tekočine se idealno trdno telo obnaša elastično, kar ponazorimo z modelom vzmeti, za katerega velja Hookov zakon. Pod vplivom strižnih sil se idealno trdno telo deformira elastično. To pomeni, da po končanem delovanju strižnih sil na telo energija, ki je potrebna za defomacijo snovi, omogoči popolno obnovo telesa.

Pri idealnem trdnem telesu je strižna napetost τ premo sorazmerna strižni deformaciji. Prema sorazmernostni koeficient je elastični strižni modul G . Idealno trdno telo opisuje enačba:

$$\tau_e = G \cdot \gamma$$

Kjer je τ_e ... elastičen del strižne napetosti [Pa]

G ... strižni modul [Pa]

γ ... strižna deformacija [%]

Delovanje stižne sile na **viskoelastično tekočino** opišemo z Maxwellovim mehanskim modelom, pri katerem sta vzmet in dušilo vezana zaporedno:

$$\tau = \tau_e = \tau_v$$

$$\gamma = \gamma_e + \gamma_v$$

$$\frac{d\gamma}{dt} = \frac{d\gamma_e}{dt} + \frac{d\gamma_v}{dt}$$

$$\frac{1}{G} \cdot \frac{d\tau}{dt} + \frac{\tau}{\eta} = \frac{d\gamma}{dt}$$

τ ... strižna napetost [Pa]

τ_e ... elastičen del strižne napetosti [Pa]

τ_v ... viskozen del strižne napetosti [Pa]

γ ... strižna deformacija [%]

γ_e ... elastičen del strižne deformacije [%]

γ_v ... viskozen del strižne deformacije [%]

G ... strižni modul [Pa]

η ... viskoznost [Pas]

Vpliv strižne sile na **viskoelastično trdno snov** opišemo z vzporedno vezanimi elementi.

V tem primeru sistem opisuje Kelvin Voigtov model:

$$\gamma = \gamma_e = \gamma_v$$

$$\tau = \tau_e + \tau_v$$

$$\tau = G \cdot \gamma + \eta \cdot \frac{d\gamma}{dt}$$

τ ... strižna napetost [Pa]

τ_e ... elastičen del strižne napetosti [Pa]

τ_v ... viskozen del strižne napetosti [Pa]

γ ... strižna deformacija [%]

γ_e ... elastičen del strižne deformacije [%]

γ_v ... viskozen del strižne deformacije [%]

G ... strižni modul [Pa]

η ... viskoznost [Pas]

Realne tekočine so pogosto kompleksnejše in jih je težko opisati z enostavnimi modeli, zato so tudi uporabljene enačbe za opis teh modelov bolj zapletene (14, 15, 16).

Merjenje viskoelastičnih lastnosti sistemov

Lastnosti viskoelastičnih sistemov lahko merimo z različnimi tipi reometrov ter uporabimo številne merilne tehnike in postopke. Kateri reometer in tehniko bomo izbrali, je predvsem odvisno od namena pridobljenih rezultatov in opreme, ki jo imamo na razpolago. Lahko delamo pri destruktivnih ali nedestruktivnih strižnih pogojih. Desktrutivni pogoji porušijo notranjo strukturo, slednji pa jo ohranijo. Zaželeno je, da poskus poteka v območju linearne viskoelastične odziva (LVO), ker ohranimo notranjo strukturo ter lahko določimo delež viskoznega in elastičnega dela. Med nedestruktivne strižne pogoje spadajo dinamični (oscilatorni) in statični testi (testi lezenja in obnove).

Zaradi vpliva temperature na viskoznost moramo zagotoviti izotermne pogoje z laminarnim tokom in zagotoviti, da ne pride do zdrsa na meji tekočina-trdna snov (14).

Senzorski sistem za reološke meritve bomo izbrali glede na lastnosti snovi. Želimo doseči enostavne in kontrolirane tokovne pogoje. Meritve izvajamo v pogojih enostavnega strižnega toka, ker se takrat strižna hitrost v reži senzorskega sistema linearno spreminja z razdaljo (14).

Dinamična – oscilatorna metoda

Viskoelastično obnašanje merimo z dinamično oscilatorno metodo. Oscilatorna metoda z majhno amplitudo defomacije omogoča določitev viskozne in elastične komponente viskoelastične snovi pri nedestruktivnih stižnih pogojih. Kot smo že napisali, nedestruktivni strižni pogoji zagotavljajo linearo viskoelastično območje (LVO), kjer ne pride do porušitve strukture sistema. Zaradi majhne hitrosti deformacije lahko zveze med napetostjo in deformacijo opišemo s pomočjo linearnih diferencialnih enačb s konstantnimi koeficienti – dinamičnimi (viskoelastičnimi) moduli, ki predstavljajo zapis linearne območja. Strižna deformacija se s časom spreminja sinusno z določeno frekvenco in amplitudo.

Opazovane sisteme lahko opišemo z naslednjimi parametri:

G^* ... kompleksni modul [Pa]

G' ... elastični modul (modul akumulacije energije, storage modulus) [Pa]

G'' ... viskozni modul (modul energetskih izgub, loss modulus) [Pa]

δ ... fazni zamik [$^\circ$]

η^* ... kompleksna viskoznost [Pas]

Celoten odpor materiala na sinusno deformacijo je določen s kompleksnim modulom, kot opisuje enačba:

$$G^* = \frac{\tau(t)}{\gamma(t)}$$

Kjer je G^* ... kompleksi modul [Pa]

τ ... strižna napetost [Pa]

γ ...strižna deformacija [%]

Elastični modul je v fazi z vsiljeno deformacijo. τ_A in γ_A predstavlja strižno napetost in strižno deformacijo, kadar je snov največ deformirana. Snov je največ deformirana na krivulji, ko je v amplitudi.

$$G' = \frac{\tau_A}{\gamma_A} \cdot \cos \delta$$

G' ... elastični modul [Pa]

τ_A ... amplituda strižne napetosti [Pa]

γ_A ... amplituda strižne deformacije [%]

Viskozni modul je izven faze z vsiljeno deformacijo in ga opisuje naslednja enačba:

$$G'' = \frac{\tau_A}{\gamma_A} \cdot \sin \delta$$

G'' ... viskozni modul [Pa]

τ_A ... amplituda strižne napetosti [Pa]

γ_A ... amplituda strižne deformacije [%]

Povezavo med kompleksnim (G^*), elastičnim (G') in viskoznim (G'') modulom ponazarja enačba:

$$G^* = G' + iG''$$

i ... imaginarno število ($i = \sqrt{-1}$)

Tangens faznega zamika opisuje razmerje viskoznega (G'') in elastičnega modula (G').

Fazni zamik ima lahko vrednosti med 0 in 90 stopinj:

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'}$$

Pri idealni tekočini je fazni zamik 90, idealnem trdnem telesu pa 0 stopinj.

Kompleksno viskoznost (η^*) lahko opišemo z razmerjem strižne napetosti (τ) in strižne hitrosti ($\dot{\gamma}$):

$$\eta^* = \frac{\tau(t)}{\dot{\gamma}(t)}$$

Povezavo med kompleksnim modulom (G^*) in kompleksno viskoznostjo (η^*) opisuje naslednja enačba:

$$G^* = i\omega \cdot \eta^*$$

Kjer je ω ... kotna frekvenca [s^{-1}]

i ... imaginarno število ($i = \sqrt{-1}$)

Realni (η') in imaginarni (η'') del kompleksne viskoznosti (η^*) opišemo z enačbami:

$$\eta' = \frac{G''}{\omega} = \frac{\tau_A \cdot \sin\delta}{\gamma_A \cdot \omega}$$

$$\eta'' = \frac{G'}{\omega} = \frac{\tau_A \cdot \cos\delta}{\gamma_A \cdot \omega}$$

Povezavo med kompleksno viskoznostjo (η^*) in njenim realnim (η') in imaginarnim (η'') delom opisuje enačba:

$$\eta^* = \eta' - i\eta''$$

Razmerje realnega (η') in imaginarnega (η'') dela kompleksne viskoznosti nam tudi da tangens faznega zamika:

$$\tan\delta = \frac{\eta'}{\eta''}$$

Od tipa reometra je odvisno, kateri parameter bomo nastavili in katerega merili. Poznamo dve vrsti reometrov, reometer z nastavljivo strižno hitrostjo in reometer z nastavljivo strižno napetostjo. Pri prvem nastavimo strižno hitrost in merimo strižno napetost, pri drugem je ravno obratno. Iz obeh tipov reometrov lahko izračunamo dinamične količine (G^* , G' , G'' , η^* , η'). (14, 15, 16)

1.4 NAČRTOVANJE EKSPERIMENTOV – DOE (Design of Experiments)

Farmacevtski procesi so pogosto odvisni od razmeroma velikega števila dejavnikov, kot so temperatura, čas, velikost delcev ... Praktično je nemogoče testirati vsako kombinacijo dejavnikov posebej, da bi določili ustrezne povezave med njimi in pri tem ne bi porabili veliko časa in denarja.

Za dosego optimalnega rezultata lahko spremojemo en ali več parametrov hkrati ter proučujemo njihov vpliv na odziv. Pristop, pri katerem spremojamo en dejavnik naenkrat, lahko pripelje raziskovalca do napačnega razmišljanja zaradi možnih interakcij, ki jih ta pristop ne upošteva.

Statistični eksperimentalni načrt ali DoE (Design of Experiments) je sistematičen pristop, pri katerem z minimalnim številom poskusov določimo povezavo med dejavniki, ki vplivajo na proces in njegov odziv. Opazujemo odziv določenega sistema pri različnih nastavitevah kontrolnih parametrov in ugotavljam, kateri dejavniki imajo največji vpliv.

Definiramo referenčni standard ter glede na standard izberemo nove, reprezentativne dejavnike, ki so simetrično oblikovani okoli njega v obliki kocke. Referenčni standard predstavlja optimalno točko in se nahaja v središču kocke, kocka pa proučevano območje. Vrednosti, ki so v optimalni točki, v poskusu ponovimo, da preverimo variabilnost eksperimenta. Glede na optimalno točko definiramo največje in najmanjše vrednosti dejavnikov in ti predstavljajo na kocki oglišča. Glede na cilj, ki ga želimo doseči, izberemo eksperimentalni načrt, kot so rešetanje faktorjev (screening), optimizacija (optimization) ali testiranje robustnosti (robustness testing) procesa. Z rešetanjem raziščemo dejavnike in njihov vpliv na odziv ter pridobimo informacijo o tem, ali je treba spremeniti določene nastavitev specifičnih dejavnikov, da bi pridobili boljši rezultat. Z optimizacijo poskušamo napovedati odziv procesa in poiskati optimalno eksperimentalno točko za vse potencialne kombinacije znotraj eksperimentalnega območja. Raziskovalec pridobi informacijo o tem, kako dejavniki vplivajo na odziv. Zadnja stopnja je testiranje robustnosti, ki ga izvedemo pred potrditvijo ustreznosti produkta ali metode. Test izvajamo, kadar želimo ugotoviti občutljivost odziva pri majhnih nihanjih dejavnikov, in v primeru, da smo že prej ugotovili, da se sistem ni izkazal kot robusten. Pravimo, da je sistem robusten, če ostane nespremenjen zaradi spremembe različnih parametrov.

Oblika eksperimenta je odvisna od cilja poskusa. Odločimo se, ali bomo rešetali dejavnike (screening), testirali robustnost procesa (robustness testing) ali pa izvedli optimizacijo procesa.

Prav tako se odločimo, katere dejavnike bomo spremajali. Delimo jih na tiste, ki jih lahko kontroliramo (controllable), in tiste ki jih ne moremo (uncontrollable). Naslednja delitev je na procesne dejavnike (process factors) in zmes dejavnikov (mixture factors) ter na kvantitativne (quantitative) in kvalitativne (qualitative). Nato določimo območje, ki ga bomo proučevali za določen dejavnik in definiramo odziv. Izberemo ustrezni regresijski model. Razlikujemo tri glavne vrste polinomskih modelov, ki jih uporabljamo največ, linearne, interakcijske in kvadratne. Kvadratni model je najkompleksnejši in potrebuje največje število eksperimentov v primerjavi z ostalimi. Za razliko od kvadratnega je linearne enostavnnejši in potrebuje najmanjše število eksperimentov. Kateri model bomo izbrali, je odvisno od tega, kateri eksperimentalni cilj želimo doseči. Pri optimizaciji bomo uporabili kvadratni model, medtem ko pri rešetanju lahko izbiramo med linearnim in interakcijskim. Za testiranje robustnosti je najprimernejši linearni model.

Po tem, ko smo izbrali primeren regresijski model, ustvarimo ustrezni eksperimentalni načrt. Program MODDE upošteva število dejavnikov, njihove nivoje in naravo (kvantitativen, kvalitativen) ter glede na izbran eksperimentalni cilj in namen eksperimenta predlaga priporočen načrt, ki naj bi dobro ustreza določenem problemu. Faktorski in delni faktorski načrt, ki spadata med rešetanje (screening design), podpirata linearne in interakcijske model. Ta načrt ima dva proučevana nivoja za vsak dejavnik in še dodatno število eksperimentov v centralni točki. Sestavljen načrt je uporaben za optimizacijo in temelji na kvadratnem modelu, vsak dejavnik ima tri ali pet nivojev.

Obstaja več vrst eksperimentalnih načrtov. Poznamo popoln faktorski (full factorial), delni faktorski (fractional factorial) in sestavljen načrt (composite design). Pri popolnem faktorskem načrtu raziščemo morebitne kombinacije parametrov in tako ugotavljamo njihove učinke. Ta postopek je mogoč samo v primeru majhnega števila parametrov z malo nivoji. Kadar imamo večje število parametrov in želimo raziskovati interakcije med njimi, se izogibamo uporabi popolnega faktorskega načrta, ker bi bilo preobsežno in predrago. V takem primeru raje uporabimo delni faktorski načrt, ki ga uporabljamo za testiranje robustnosti. Sestavljen načrt uporabljam za optimizacijo in

vsebuje gradbeno enoto, faktorske robe, ponovljene eksperimente v centralni točki in aksialne eksperimente.

Če proučujemo vpliv dveh ali treh dejavnikov si načrt lahko predstavljamo v obliki kvadrata pri dveh in v obliki kocke pri treh dejavnikih. Pri več kot treh dejavnikih pa pride do oblike hiperkocke. Število poskusov je odvisno od števila proučevanih parametrov, njihovih nivojev in medsebojnih učinkov.

Z računalniškimi programi, kot je MODDE (Umetrics), lahko preverimo ustreznost modela, ker rezultate lahko prikažemo v obliki različnih grafov (response contour plot). Iz grafov lahko enostavno razberemo vpliv določenega dejavnika na odziv in če je ta vpliv statistično značilen. Prav tako s pomočjo ustreznih regresijskih koeficientov lahko zaznamo vpliv med posameznimi dejavniki. Grafi nam tudi omogočajo določitev optimalne točke za izvajanje eksperimentov in pridobimo informacijo o morebitnih potrebnih nadaljnjih eksperimentih.

Z DoE pridobimo večje število informacij z manj uporabljenih sredstev (eksperimentov, časa, materiala) in nam omogoča oceno interakcij med dejavniki. Nekateri dejavniki, nad katerimi nimamo nadzora, vplivajo na odziv in jih zaznamo kot šum ozadja. DoE nam omogoča, da lahko ločimo šum ozadja od odziva in pridobimo oceno napake.

Velika prednost DoE je tudi ta, da zagotavlja organiziran pristop, s katerim je možno obravnavati tako enostavne kot tudi zapletene eksperimentalne probleme. Potrebuje manjše število eksperimentov v primerjavi z ostalimi pristopi, ker eksperimenti pripadajo eksperimentalnem načrtu in so logično povezani med seboj. Zaradi vrednotenja skupnega vpliva vseh dejavnikov z DoE dobimo uporabnejše in natančnejše informacije o proučevanem sistemu (17).

2 NAMEN DELA

V magistrski nalogi bomo proučili vpliv različnih pomožnih snovi (regulatorjev pH, površinsko aktivnih snovi, topnih nizkomolekularnih dodatkov, protipenil) in procesnih parametrov (temperature, homogenizacije) na reološke lastnosti gela ksantana. Pri načrtovanju eksperimentov bomo uporabili metodo DoE.

V okviru magistrske naloge bomo ovrednotili tudi povezanost reoloških parametrov s posedanjem netopnih delcev v gelu ksantana. Kot model delcev bomo uporabili titanov dioksid. Poskušali bomo razviti analizno metodo, ki bo omogočala hitro ovrednotenje posedanja delcev. Poskusili bomo tudi oceniti redisperzibilnost delcev v gelu.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 Materiali

3.1.1 Ksantan

Ksantan je bel do kremasto obarvan fin prah, brez vonja, z dobrimi pretočnimi lastnostmi. Uporabljamo ga kot gelirno sredstvo, stabilizator, sredstvo za suspendiranje, sredstvo za zadržano sproščanje in sredstvo za povečanje viskoznosti. Kompatibilen je z večino drugih pomožnih snovi, zaradi anionske strukture istočasna uporaba s kationskimi spojinami ni priporočljiva, ker lahko pride do precipitacije. Ksantan izkazuje konstantno viskoznost in stabilnost v širokem pH območju (12).

3.1.2 Titanov dioksid

Titanov dioksid je bel, amorfen, nehigroskopen prah brez vonja in okusa. V farmacevtskih oblikah ga uporabljamo kot bel pigment, zlasti za filmsko oblaganje, suspenzije, sladkorno oblaganje tablet in želatinskih kapsul. Lahko ga tudi pomešamo z drugimi pigmenti. Prav tako ga uporabljamo v dermatoloških preparatih in kozmetiki, kot zaščito pred soncem (13).

3.1.3 Monohidrat citronske kisline

Monohidrat citronske kisline je bel, kristaliničen prah, zelo lahko topen v vodi in lahko topen v alkoholu (18). Glavna uporaba citronske kisline je kot del citratnega pufra za reguliranje pH izdelka. V suspenzijah, ki vsebujejo aluminijev hidroksid, znižuje viskoznost ter preprečuje interakcije med aluminijevim hidroksidom in magnezijevimi spojinami (kar je posebej pomembno pri antacidih) (5, 13).

3.1.4 Natrijev citrat dihidrat

Natrijev citrat dihidrat je brez vonja, brez barve, bel kristaliničen prah, pridobljen s hlajenjem, ali v obliki monoklinskih kristalov, slanega okusa. Je lahko topen v vodi in netopen v etanolu. Primarna uporaba natrijevega citrata dihidrata je kot sredstvo za

uravanavanje pH v koncentracjah med 0,3 in 2,0 % (m/m). Zaradi dobre stabilnosti njegove vodne raztopine lahko steriliziramo z avtoklaviranjem (13).

3.1.5 Glucidex 39

Glucidex je kemijsko maltodekstrin in ga pridobivamo s hidrolizo škroba. Je bel prah, brez vonja in nevtralnega okusa. Vsebuje največ $\alpha(1\rightarrow4)$ povezanih glukoz z dekstroznim ekvivalentom (DE), manjšim od 20. Fizikalne lastnosti, kot sta topnost in viskoznost, se razlikujejo glede na vrednost DE, ki nakazuje stopnjo hidrolize škroba. Vrednost DE je redukcijska moč sladkorjev, izražena v gramih D-glukoze na 100 g suhe snovi. Uporabljamo ga kot sredstvo za oblaganje ali kot sredstvo za povečanje viskoznosti (13).

3.1.6 Kolliphor RH40

Kolliphor RH40 večinoma vsebuje trihidroksistearil glicerol etoksilat s 7 do 60 molekulami etilenoksida in majnimi količinami makrogol hidroksistearata ter ustreznimi prostimi glikoli. Pridobivamo ga z reakcijo hidrogeniranega ricinusovega olja z etilenoksidom (18). Pri 20 °C je bela do rumenkasta poltrdna pasta, ki se utekočini pri 30 °C. Ima šibek značilen vonj in v vodnih raztopinah je skoraj brez okusa (19). Uporabljamo ga v farmacevtskih oblikah za peroralno, dermalno ali parenteralno uporabo kot neionogeni emulgator, solubilizator ali močilo. V peroralnih farmacevtskih oblikah ga uporabljamo kot solubilizator za lipofilne vitamine, eterična olja in druge hidrofobne spojine (13).

3.1.7 Polisorbat 80

Polisorbat 80 s kemijskim imenom polioksietilen 20 sorbitan monooleat je rumena oljna tekočina pri 25 °C. Topen je v vodi in etanolu ter netopen v mineralnih in rastlinskih oljih. Polisorbate v koncentracij med 1 in 15 % uporabljamo kot emulgatorje ali solubilizatorje ter kot močljivce v koncentraciji med 0,1 in 3 %. V farmacevtskih izdelkih jih uporabljamo za pripravo stabilnih emulzij O/V in za solubiliziranje eteričnih olj ali lipofilnih vitaminov (13).

3.1.8 Simetikon

Simetikon je zmes silikagela in linearnega polidimetilsilosana (11). Je prosojna, sivkasto obarvana, viskozna tekočina z molekulsko maso 14.000 do 21.000 g/mol. Praktično netopen je v 95-odstotnem etanolu in vodi. Tekoča faza je topna v benzenu, kloroformu in etru. V nekaterih izdelkih s simetikonom se silikonov dioksid useda na dno vsebnika in je treba vsebnik prej pretresti, da zagotovimo enakomernost vsebnosti pred vzorčenjem ali uporabo. Primarna uporaba simetikona je kot protipenilo, prav tako ga uporabljamo še kot sredstvo za raztpljanje tablet in sredstvo za odbijanje vode (13).

3.2 Naprave

600-mililirska čaša, steklovina

Pipeta

Magnetni mešalnik IKA RCT, Ika, Nemčija

Centrifuga Sigma 3-30 K, Sigma, Nemčija

Tehtnica VIBRA AJP, Shinko Denshi, Japonska

Rotacijski reometer Haake Rheostress RS75, Thermo Scientific, ZDA

Haake A5B termostatska kopel, Thermo Scientific, ZDA

ULTRA-TURRAX T25 homogenizator, Ika, Nemčija

Vortex IKA yellow line TTS 2 vibracijski mešalnik, Ika, Nemčija

Propelerski mešalnik z disolverski mešalom (v nadaljevanju propelerski mešalnik), Ika, Nemčija

3.3 Metode

3.3.1 Razvijanje metode sedimentiranja

Metoda sedimentiranja temelji na dejstvu, da se delci usedajo zaradi delovanja sile težnosti ali centrifugalne sile. Metodo smo razvijali s pomočjo centrifuge pri različnih obratih, rotorjih in času centrifugiranja. Parametre smo spremenjali, da bi dobili

diskriminatorne nastavitev, ki bi simulirale pospešeno sedimentacijo pri normalnih pogojih shranjevanja.

Sedimentacijo smo vrednotili s tehtanjem usedline po centrifugiranju.

Centrifugiranje testnih vzorcev Xan_N1 – Xan_19, ter vzorci Xan_M2, Xan_M5, Xan_M6, Xan_M11 in Xan_M15

Na začetnih vzorcih (Xan001, Xan001A, Xan003_N1 in Xan003_N16) smo določevali optimalne parametre centrifugiranja. Spreminjali smo hitrost in čas centrifugiranja kakor tudi vrednotenje mase sedimenta (tako po centrifugiranju in po sušenju sedimenta).

Za pridobivanje sedimenta pri pripravljenih vzorcih Xan_N1 – Xan_N19, ter Xan_M2, Xan_M5, Xan_M6, Xan_M11 in Xan_M15 smo kot optimalno metodo centrifugiranja izbrali hitrost pri 20.000 obratih/min 10 min in približno 14 g vzorca. Nato smo centrifugirko 30 sekund držali obrnjeno nad čašo in preostanek v centrifugirki stehtali. Tako obrnjeno centrifugirko smo dali na stojalo za 1 uro, da je preostala tekočina stekla ven. Čez eno uro smo vse centrifugirke vrnili v normalen položaj in pustili odprte eno ali dve noči. Naslednji dan smo ponovno stehtali preostale sedimente ter jih sušili še 3 dni v pokončnem položaju. Po končanem sušenju smo jih še enkrat stehtali in primerjali mase sedimentov med vzorci.

Vzorci se razlikujejo glede na sestavo, oznake so podrobnejše opisane v nadaljevanju.

3.3.2 Razvijanje metode redispergiranja

Redispergiranje je mehanski postopek, s katerim smo sediment, pridobljen s centrifugiranjem, žeeli ponovno porazdeliti po disperznem mediju. Postopek smo izvajali s pomočjo vibracijskega mešalnika in ultrazvočne kadičke ter vrednotili, v kolikšni meri se usedlina ponovno redispergira v začetno stanje.

3.3.3 Izdelava vzorcev po eksperimentalnem načrtu

Eksperimente smo načrtovali z metodo DoE (Design of Experiments) s pomočjo programa MODDE 10.1. Z delnim faktorskim načrtom smo se odločili proučevati sedem dejavnikov z metodo rešetanja (screening). Cilj rešetanja je določiti, kateri dejavniki imajo

največji vpliv in njihovo območje. Izbrali smo linearni model pri resoluciji IV, ki ga priporočajo za to metodo. Pri resoluciji IV so dvofaktorske interakcije združene med seboj in ne z glavnim učinkom. Če bi uporabili dvonivojski popolni faktorski načrt, bi morali s 7 dejavniki opraviti $2^7 = 128$ poskusov. Delni faktorski načrt, kot smo opisali v uvodu, omogoča delo z manjšim številom poskusov, saj so določene interakcije iz popolnih načrtov zamenjane z novimi dejavniki. Z resolucijo IV dobimo $2^{(7-3)} = 16$ poskusov. Število 3 v eksponentu predstavlja število interakcij, zamenjanih z novim dejavnikom. Poskus opravimo še v centralni točki, ki ga ponovimo trikrat, in sicer zato, da preverimo ponovljivost poskusa in variabilnost meritev. Na ta način dobimo končnih 19 poskusov, 16 iz vogalov in 3 iz centralne točke (22). Dejavnike, njihov opis in meje prikazuje **preglednica 2.**

Preglednica 2: Tip dejavnikov in njihove meje

Dejavnik	Tip	Meje
Glucidex	kvantitativni	200 do 353
Simetikon	kvantitativni	1 do 5
Polisorbat	kvantitativni	5 do 15
Citronska kislina	kvantitativni	0 do 0,96
Kolliphor	kvantitativni	0 do 174
Temperatura	dvonivojski	25; 60
Homogenizacija	kvalitativni	DA; NE

Dejavnike in njihove meje smo vnesli v program MODDE 10.1 in dobili vrednosti, ki jih prikazuje **preglednica 3.** Vrednosti smo nato preračunali za potrebne količine in po njih pripravili vzorce.

Preglednica 3: Pridobljene vrednosti za pomožne snovi in procesne parametre iz programa MODDE

Exp Name	Glucidex	Simetikon	Polisorbat	Citronska kislina	Kolliphor	Temperatura	Homogenizacija
N1	200	1	5	0	0	25	DA
N2	353	1	5	0	174	60	DA
N3	200	5	5	0	0	60	NE
N4	353	5	5	0	174	25	NE
N5	200	1	15	0	174	60	NE
N6	353	1	15	0	0	25	NE
N7	200	5	15	0	174	25	DA
N8	353	5	15	0	0	60	DA
N9	200	1	5	0,96	174	25	NE
N10	353	1	5	0,96	0	60	NE
N11	200	5	5	0,96	174	60	DA
N12	353	5	5	0,96	0	25	DA
N13	200	1	15	0,96	0	60	DA
N14	353	1	15	0,96	174	25	DA
N15	200	5	15	0,96	0	25	NE
N16	353	5	15	0,96	174	60	NE
N17	276,5	3	10	0,48	87	25	DA
N18	276,5	3	10	0,48	87	25	DA
N19	276,5	3	10	0,48	87	25	DA

Suspenzije smo pripravili po naslednjem postopku:

1. V 600-mililitrsko čašo smo s pomočjo steklene palčke natehtali polisorbat 80, dodali ustrezeno količino vode in mešali na magnetnem mešalu pri hitrosti 400 obratov/min 3 minute.
2. Raztopini smo dodali simetikon in mešali na magnetnem mešalu približno 5 minut in pri hitrosti 400 obratov/min.
3. Nastali disperziji smo dodali natrijev citrat in mešali na magnetnem mešalu pri hitrosti 400 obratov/min za 1 minuto.
4. Dodali smo citronska kislina in mešali na magnetnem mešalu pri 500 obratih/min za 5 min.
5. Med stalnim mešanjem na propellerskem mešalniku z disolverskim mešalom (v nadaljevanju propellerski mešalnik) (500 obratov/min) smo počasi dodajali ksantan. Mešali smo toliko časa pri hitrosti 700 obratov/min, dokler se ni popolnoma dispergiral.

6. Ko se je ksantan dispergiral, smo prenehali z mešanjem in pustili nabrekati približno 45 minut.
7. Po nabrekanju smo med stalnim mešanjem (700 obratov/min) dodali glucidex 39. Zmes smo mešali toliko časa na propelerskem mešalniku pri hitrosti 900 obratov/min, da se je popolnoma dispergirala.
8. Nato smo dodali titanov dioksid in mešali na propelerskem mešalniku pri hitrosti 900 obratov/min približno 5 min, da se je popolnoma dispergiral (vizualna kontrola).
9. Na koncu smo dodali Kolliphor RH40 in premešali na propelerskem mešalniku pri hitrosti 900 obratov/min približno 5 min.

Nekatere vzorce smo homogenizirali in/ali segrevali.

- Vzorce, ki smo jih samo segrevali, smo položili v vodno kopel, predhodno ogreto na 60 °C. 30 minut smo mešali s propelerskim mešalnikom pri hitrosti od 900 obratov/min.
- Vzorce, ki smo jih samo homogenizirali, smo homogenizirali pri sobni temperaturi in hitrosti 12 000 obratov/min 30 minut.
- Vzorce, ki smo jih hkrati homogenizirali in segrevali, smo homogenizirali direktno med segrevanjem v vodni kopeli ogreti na 60 °C in pri hitrosti 12.000 obratov/min 30 minut.

Ob dodatku Glucidexa smo tudi upoštevali vsebnost in jo ustrezzo preračunali glede na DE. Prav tako smo v Glucidexu upoštevali začetno vodo.

Mase dodanih spojin in pogoje izdelave prikazuje **preglednica 4**. V vseh primerih smo pripravili 300 g vzorca in ga ovrednotili z navedenimi metodami.

Preglednica 4: Mase dodanih spojin v gramih in pogoji izdelave vzorcev

	Polisorbat 80	Voda	Simetikon	Natrijev citrat	Citronska kislina	Ksantan	Glucidex	Titanov dioksid	Kolliphor RH40	Segrevanje	Homogenizacija
Xan001	2,586	220,138	0,776	0,155	0,124	0,776	74,411	1,034	0	ne	ne
Xan002_N1	1,293	242,646	0,259	0,155	0	0,776	53,823	1,034	0	ne	ne
Xan003_N16	3,879	152,616	1,293	0,155	0,248	0,776	94,998	1,034	45	ne	ne
Xan001A	2,586	220,138	0,776	0,155	0,124	0,776	74,411	1,034	0	ne	ne
Xan002A_N1	1,293	242,646	0,259	0,155	0	0,776	53,823	1,034	0	ne	ne
Xan003A_N16	3,879	152,616	1,293	0,155	0,248	0,776	94,998	1,034	45	ne	ne
Xan_N1	1,293	242,659	0,259	0,155	0	0,776	53,823	1,034	0	ne	da
Xan_N2	1,293	156,485	0,259	0,155	0	0,776	94,998	1,034	45	da	da
Xan_N3	1,293	241,625	1,293	0,155	0	0,776	53,823	1,034	0	da	ne
Xan_N4	1,293	155,45	1,293	0,155	0	0,776	94,998	1,034	45	ne	ne
Xan_N5	3,879	195,073	0,259	0,155	0	0,776	53,823	1,034	45	da	ne
Xan_N6	3,879	198,898	0,259	0,155	0	0,776	94,998	1,034	0	ne	ne
Xan_N7	3,879	194,039	1,293	0,155	0	0,776	53,823	1,034	45	ne	da
Xan_N8	3,879	197,864	1,293	0,155	0	0,776	94,998	1,034	0	da	da
Xan_N9	1,293	197,411	0,259	0,155	0,248	0,776	53,823	1,034	45	ne	ne
Xan_N10	1,293	201,236	0,259	0,155	0,248	0,776	94,998	1,034	0	da	ne
Xan_N11	1,293	196,377	1,293	0,155	0,248	0,776	53,823	1,034	45	da	da
Xan_N12	1,293	200,202	1,293	0,155	0,248	0,776	94,998	1,034	0	ne	da
Xan_N13	3,879	239,825	0,259	0,155	0,248	0,776	53,823	1,034	0	da	da
Xan_N13(4H)	3,879	239,825	0,259	0,155	0,248	0,776	53,823	1,034	0	da (4h)	da (4h)
Xan_N14	3,879	153,65	0,259	0,155	0,248	0,776	94,998	1,034	45	ne	da
Xan_N15	3,879	238,79	1,293	0,155	0,248	0,776	53,823	1,034	0	ne	ne
Xan_N16	3,879	152,616	1,293	0,155	0,248	0,776	94,998	1,034	45	da	ne
Xan_N17	2,586	197,638	0,776	0,155	0,124	0,776	74,411	1,034	22,5	ne	da
Xan_N18	2,586	197,638	0,776	0,155	0,124	0,776	74,411	1,034	22,5	ne	da
Xan_N19	2,586	197,638	0,776	0,155	0,124	0,776	74,411	1,034	22,5	ne	da
Xan_M2	1,293	156,485	0,259	0,155	0	0,776	94,998	1,034	45	da	da
Xan_M5	3,879	195,073	0,259	0,155	0	0,776	53,823	1,034	45	da	ne
Xan_M6	3,879	198,898	0,259	0,155	0	0,776	94,998	1,034	0	ne	ne
Xan_M11	1,293	196,377	1,293	0,155	0,248	0,776	53,823	1,034	45	da	da
Xan_M15	3,879	238,79	1,293	0,155	0,248	0,776	53,823	1,034	0	ne	ne

3.3.4 Reološke metode

Reološke meritve smo izvajali z dvema oscilacijskima metodama, amplitudno in frekvenčno. Z amplitudno (amplitude sweep), pri kateri se ob konstantni frekvenci spreminja amplituda, določimo LVO (linearno viskoelastično območje). LVO nam omogoča oceno stabilnosti suspenzije. Vzorec, ki ima velik LVO, nakazuje na dobro dispergiran in stabilen sistem. S spremenjanjem velikosti strižne deformacije pri amplitudni metodi s konstantno frekvenco se spremenjata dinamična modula G' in G'' , ki sta v območju LVO neodvisna od amplitude strižne napetosti in deformacije. Po prehodu LVO oziroma z nadaljnjjim naraščanjem amplitude strižne deformacije pričnejo vrednosti obeh modulov padati (16, 20).

Frekvenčna metoda (frequency sweep) omogoča določitev viskoelastičnih lastnosti snovi kot funkcijo časa brez rušenja notranje strukture testirane snovi. Pri frekvenčni metodi meritve izvajamo v LVO pri različnih frekvencah oscilacije. Kratkoročne lastnosti prikažemo s hitrimi gibi pri visokih frekvencah in dolgoročne z počasnimi gibi pri nižjih frekvencah (16).

Postopek:

Suspenzijo smo rahlo premešali na magnetnem mešalu in potrebno količino dali na ploščico, da smo zapolnili režo. Zgornjo ploščico smo približali spodnji na razdaljo 95 mikrometrov. Meritve smo izvajali po vnaprej določenem programu in navedenih pogojih.

Pogoji:

Nastavljena temperatura: $T = 23 \text{ } ^\circ\text{C} < \pm 0,20 \text{ } ^\circ\text{C}$

Oscilacijska amplitudna metoda:

strižna napetost (τ): 0,01000 Pa – 100,0 Pa

kotna frevenca (ω): 1,000 Hz

Oscilacijska frekvenčna metoda:

strižna napetost (τ): 0,2500 Pa

kotna frevenca (ω): 0,01000 Hz – 20,00 Hz

Parametri, ki smo jih beležili in vrednotili v DoE, so elastični modul (G'), viskozni modul (G''), viskoznost ($|\eta^*|$), točka križanja ($G'=G''$) ter naklona premic pri frekvenčni metodi za G' in G'' .

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 Razvijanje metode sedimentiranja

4.1.1 Centrifugiranje

Razvoj metode sedimentiranja smo pričeli s centrifugiranjem pri različnih obratih in časih z namenom iskanja optimalnih pogojev centrifugiranja. Cilj nam je bil pridobiti čim več sedimenta. Na začetku razvoja metode smo pripravili tri reprezentativne vzorce (Xan001, Xan002_N1 in Xan003_N16), ki nam glede na sestavo pokrivajo robe in sredino testiranih vzorcev. Xan002_N1 in Xan003_N16 sta skrajna vzorca, saj Xan002_N1 vsebuje najmanj sestavin in največ vode, medtem ko Xan003_N16 vsebuje največ sestavin in najmanj vode. Po sestavi se vzorec Xan001 nahaja vmes med obema skrajnima vzorcema.

Začeli smo s sredinskim vzorcem Xan001. Vzorec smo nalili v centrifugirko, stehtali in centrifugirali. Prisotnost sedimenta v centrifugirki smo ocenili vizualno. Mase vzorcev in testirane pogoje centrifugiranja podaja **preglednica 5**.

Preglednica 5: Mase vzorca (Xan001) in pogoji centrifugiranja

Številka poskusa	vzorec	m _{vzorca} (g)	hitrost centrifugiranja (o/min)	čas centrifugiranja (min)	vrsta rotorja
1	Xan001	15,658	10.000	10	12155-H
1a			20.000	10	12155-H
2	Xan001	15,466	20.000	30	12155-H
3	Xan001	1,513	30.000	30	12110-H
4	Xan001	1,536	20.000	15	12110-H
4a			25.000	10	12110-H
5	Xan001	1,517	27.000	10	12110-H
6	Xan001	1,482	30.000	5	12110-H

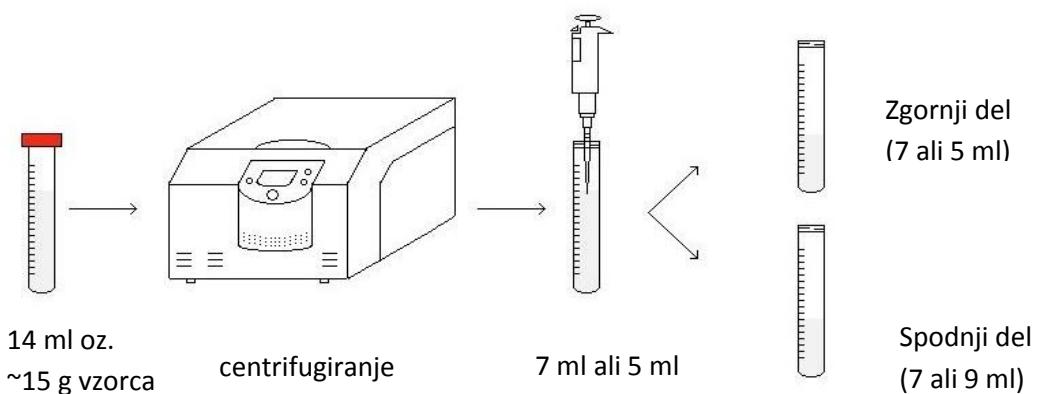
Kljub povečevanju hitrosti centrifugiranja do maksimalne zmogljivosti centrifugirke so bili vsi vzorci še vedno motni in mlečno bele barve. V nobenem primeru ni bilo možno vizualno oceniti deleža sedimenta v vzorcu.

Zato smo poskušali gravimetrično določiti, v katerem delu centrifugirke (zgornjem ali spodnjem) ostane več sedimenta. Test smo izvedli tako, da smo v centrifugirko odmerili

14 ml vzorca, stehtali ter centrifugirali. Po centrifugiranju smo odvzeli 7 ml ali 5 ml zgornjega dela vzorca Xan001, določili maso in jo primerjali z maso spodnjega dela. V spodnjem delu centrifugirke je ostalo 7 ml ali 9 ml vzorca. Poskus smo ponovili z vzorcema Xan002_N1 in Xan003_N16 (**preglednica 6**). Za lažjo predstavitev postopek prikazujemo na **sliki 2**.

Preglednica 6: Mase vzorcev (Xan001, Xan002_N1 in Xan003_N16) s pogoji centrifugiranja

Številka poskusa	vzorec	m_{vzorca} (g)	Pogoji centrifugiranja		Zgornji del vzorca		Spodnji del vzorca	
			hitrost (o/min)	čas (min)	volumen (ml)	masa (g)	volumen (ml)	masa (g)
1	Xan001	15,073	20.000	60	7	6,973	7	7,649
2	Xan001	14,905	20.000	60	7	6,779	7	7,684
3	Xan001	15,191	20.000	60	7	7,246	7	6,414
4	Xan001	15,191	20.000	60	7	7,268	7	7,403
5	Xan001	15,035	20.000	60	5	5,147	9	9,527
6	Xan001	14,984	20.000	60	5	4,936	9	9,678
7	Xan002_N1	14,380	20.000	30	7	6,403	7	7,675
8	Xan003_N16	15,118	20.000	30	7	6,589	7	7,724



Slika 2: Slikovni prikaz pridobivanja spodnjega in zgornjega dela vzorca

Med poskusom je del vzorca ostal na nastavku za pipete in močno vplival na določeno maso vzorca. Razlike med maso zgornjega in spodnjega dela vsebine centrifugirke so bile zelo majhne in so se izgubile zaradi nenatančnosti metode. Zaradi omenjenih težav smo nadaljevali z iskanjem ustreznejšega postopka.

Pri treh reprezentativnih vzorcih (Xan001, Xan002_N1 in Xan003_N16) smo merili preostanek sedimenta v centrifugirki. Približno 14 g vzorca smo centrifugirali 10 minut. Nato smo centrifugirke obrnili za 30 sekund nad časo in odlili supernatant, stehtali in

pustili sušiti na zraku brez zamaškov v pokončnem položaju. Sedimente smo tehtali takoj po odlitju supernatanta, naslednji dan ter po treh dneh sušenja, kot prikazuje **preglednica 7**.

Preglednica 7: Mase vzorcev (Xan001, Xan002_N1 in Xan003_N16) s pogoji centrifugiranja, ter mase pridobljenih sedimentov v različnih časovnih obdobjih (takoj, sušenih eno noč, sušenih 3 dni)

Številka poskusa	vzorec	m_{vzorca} (g)	hitrost centrifugiranja (o/min)	$m_{sedimenta/takoj}$ (g)	$m_{sed/čez}$ noč (g)	$m_{sed(3\ dñi)}$ (g)
1	Xan001	13,926	20.000	0,758	0,155	0,085
	Xan002_N1	14,016	20.000	0,502	0,117	0,054
	Xan003_N16	14,065	20.000	1,673	0,164	0,128
2	Xan001	14,028	20.000	0,765	0,162	0,089
	Xan002_N1	14,083	20.000	0,741	0,142	0,072
	Xan003_N16	14,008	20.000	1,558	0,137	0,098
3	Xan001	14,004	20.000	0,609	0,162	0,090
	Xan002_N1	14,078	20.000	0,673	0,115	0,050
	Xan003_N16	14,012	20.000	1,529	0,153	0,111
4	Xan001	13,978	10.000	0,427	0,015	0,015
	Xan002_N1	13,992	10.000	0,621	0,009	0,009
	Xan003_N16	13,998	10.000	1,567	0,039	0,034
5	Xan001	14,023	5000	0,473	0,016	0,017
	Xan002_N1	14,038	5000	0,632	0,011	0,008
	Xan003_N16	14,061	5000	1,686	0,034	0,028

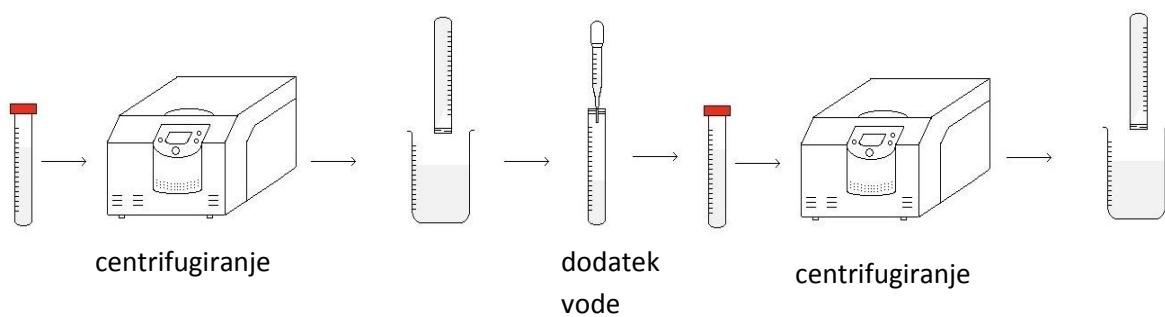
Ponovljivost poskusa smo preverili tako, da smo vzorce v prvih treh poskusih centrifugirali pri isti hitrosti. S četrtim in petim poskusom smo primerjali, kako hitrost centrifugiranja vpliva na maso sedimenta v centrifugirki. Iz **preglednice 7** je razvidno, da sprememba hitrosti centrifugiranja vpliva na maso sedimenta, saj pri hitrosti 20.000 obratov/min pridobimo več sedimenta kot pri nižjih hitrostih (10.000 obratov/min in 5000 obratov/min), pri katerih smo dobili dokaj podobne mase sedimentov. Vidimo tudi, da je pri prvih treh poskusih, kjer smo centrifugirali ob konstantni hitrosti (20.000 obratov/min), največ sedimenta ostalo v vzorcu, ki je vseboval največ sestavin (Xan003_N16) in najmanj pri vzorcu z najmanj sestavinami (Xan002_N1). Zaradi nihanj v rezultatih smo se odločili poskus ponoviti z izpiranjem sedimenta.

Približno 14 g vzorca smo centrifugirali 10 min pri različnih hitrostih. Nato smo centrifugirko obrnili za 30 sekund nad čašo in odlili supernatant. Pridobljenemu sedimentu smo dodali približno 13 g vode in ga centrifugirali pri enakih pogojih. Na enak način smo

odlili supernatant in pustili sušiti v pokončnem položaju. Sedimente smo stehtali takoj po odlitju supernatanta, naslednji dan ter po treh dneh sušenja. Z vodo smo žeeli izprati ostanke vzorca na stenah centrifugirki. Viskoznejši ko je bil vzorec, več ga je ostajalo na stenah, kar je vplivalo na končno maso sedimenta. Mase vzorcev, dodane vode in sedimentov ter hitrost centrifugiranja navajamo v **preglednici 8**. Za lažje razumevanje postopek prikazujemo na **sliki 3**.

Preglednica 8: Mase vzorcev (Xan001 , Xan002_N1 in Xan003_N16) in dodane vode s pogoji centrifugiranja, ter mase pridobljenih sedimentov v različnih časovnih obdobjih (takoj, sušenih eno noč, sušenih 3 dni)

Številka poskusa	vzorec	m_{vzorca}	hitrost centrifugiranja	$m_{(\text{H}_2\text{O})}$	$m_{\text{sed/takoj}}$	$m_{\text{sed/čez noč}}$	$m_{\text{sed(3dni)}}$
		(g)	(o/min)	(g)	(g)	(g)	(g)
1	Xan001	14,035	5000	13,019	0,048	0,023	0,006
	Xan002_N1	13,993	5000	13,018	0,069	0,002	0,002
	Xan003_N16	14,059	5000	13,020	0,124	0,016	0,011
2	Xan001	14,029	5000	13,009	0,070	0,007	0,005
	Xan002_N1	14,028	5000	13,005	0,045	0,002	0,002
	Xan003_N16	14,020	5000	13,016	0,146	0,012	0,010
3	Xan002_N1	14,083	2500	13,000	0,048	0,019	0,001
	Xan003_N16	14,024	2500	13,002	0,111	0,019	0,007
4	Xan001	14,022	2500	12,997	0,056	0,030	0,004
	Xan002_N1	14,062	2500	13,064	0,080	-0,024	-0,028
	Xan003_N16	14,049	2500	13,017	0,205	0,014	0,014
5	Xan001	14,049	1200	13,003	0,056	0,025	0,002
	Xan002_N1	14,076	1200	13,017	0,035	0,001	0,001
	Xan003_N16	14,007	1200	12,999	0,161	0,019	0,015
6	Xan001	14,037	600	13,030	0,084	0,018	0,013
	Xan002_N1	14,039	600	13,013	0,045	0,014	0,002
	Xan003_N16	14,046	600	13,015	0,396	0,025	0,021



Slika 3: Slikovni prikaz pridobivanja sedimenta iz vzorcev Xan001, Xan002_N1 in Xan003_N16 z izpiranjem z vodo

Želeli smo še preveriti, koliko sedimenta oz. ostankov vzorca ostane v centrifugirki, če vzorce namesto centrifugiranja pustimo stati na stojalu (referenčni poskus). Ponovno smo natehtali približno 14 g vzorca in dali v centrifugirko ter ga pustili 10 min na stojalu. Nato smo centrifugirko obrnili za 30 sekund nad čašo in odlili supernatant. Ostankom v centrifugirki smo dodali približno 13 g vode in še enkrat pustili stati 10 minut na stojalu. Nato smo odlili supernatant in pustili sušiti v pokončnem položaju. Sedimente smo tehtali takoj po odlitju supernatanta, naslednji dan ter čez tri dni sušenja. Mase vzorcev in sedimentov prikazuje **preglednica 9**.

Preglednica 9: Mase vzorcev (Xan001, Xan002_N1 in Xan003_N16) in pridobljenih sedimentov (brez centrifugiranja)

Številka poskusa	vzorec	m_{vzorca} (g)	hitrost centrifugiranja (o/min)	$m_{(H_2O)}$ (g)	$m_{sed/takoj}$ (g)	$m_{sed/čez noč}$ (g)	$m_{sed(3dни)}$ (g)
referenčni	Xan001	14,040	0	13,028	0,073	0,019	0,002
	Xan002_N1	14,082	0	12,997	0,060	0,013	0,001
	Xan003_N16	14,082	0	13,080	0,377	0,024	0,020

Iz poskusov vidimo, da mase pridobljenih sedimentov nihajo pri izbranih hitrostih centrifugiranja, ne glede na to, ali smo vzorec kasneje izpirali z vodo ali ne. Pri poskusu, pri katerem vzorcev nismo centrifugirali (referenčni poskus) so mase sedimentov podobne kot pri vzorcih, ki smo jih centrifugirali pri manjših obratih. Sklepamo, da voda ni popolnoma izprala ostankov s sten, ki nam nato prispevajo k celotni masi sedimenta. Prav tako lahko sklepamo, da manjše hitrosti centrifugiranja niso zadostne za popolno ločevanje trdnih delcev titanovega dioksida od tekočega dela.

V naslednjem sklopu poskusov smo poskušali odstraniti ostanke s sten tako, da smo vzorce sušili obrnjene na glavo. Predvidevali smo, da bo tekoči del stekel iz centrifugirke in ostal le sediment in bomo tako zmanjšali nihanja v rezultatih. Primerjali smo mase sedimentov glede na to, ali smo vzorec po prvem centrifugiranju izprali z vodo ali ne. Uporabili smo vzorce Xan001, Xan002_N1 in Xan003_N16. Ker nam je zmanjkalo prvega vzorca, Xan001, smo ga ponovno izdelali in označili s Xan001A. V nadaljevanju sta opisana postopka priprave vzorcev brezizpiranja z vodo in z izpiranjem.

Postopek priprave vzorca brez izpiranja:

Približno 14 g vzorca smo centrifugirali 10 min. Nato smo odlili supernatant in stehtali sediment ter centrifugirko, obrnjeno za 180° , z odprtim zamaškom dali sušiti na stojalo. Po treh dneh sušenja smo še enkrat stehtali sediment. Mase vzorcev in sedimentov ter hitrost centrifugiranja prikazuje **preglednica 10.**

Preglednica 10:: Mase vzorcev (Xan001, Xan001A, Xan002_N1 in Xan003_N16) s pogoji centrifugiranja, ter mase pridobljenih sedimentov – brez izpiranja z vodo

Številka poskusa	vzorec	m_{vzorca}	hitrost	$m_{sed/takoj}$	$m_{sed(3\ dni)}$
			centrifugiranja		
1	Xan001	14,026	20.000	0,585	0,083
	Xan002_N1	14,021	20.000	0,713	0,054
	Xan003_N16	14,004	20.000	1,988	0,129
2	Xan001A	14,047	20.000	0,544	0,082
	Xan002_N1	14,078	20.000	0,521	0,068
	Xan003_N16	14,028	20.000	1,866	0,143
3	Xan001A	14,048	20.000	0,690	0,081
	Xan002_N1	14,074	20.000	0,625	0,059
	Xan003_N16	14,028	20.000	1,859	0,123
4	Xan001A	14,014	10.000	0,744	0,017
	Xan002_N1	14,022	10.000	0,474	0,012
	Xan003_N16	14,022	10.000	1,879	0,033

Postopek priprave vzorca z izpiranjem z vodo:

Približno 14 g vzorca smo dali v centrifugo za 10 minut. Supernatant smo odlili in pridobljenemu sedimentu dodali približno 13 g vode ter močno pretresli, da se je vsebina v centrifugirki redispergirala. Redispergirani vzorec smo centrifugirali 10 minut in postopek še enkrat ponovili. Po končanem centrifugiranju smo stehtali sediment in centrifugirko, obrnjeno za 180° , z odprtim zamaškom dali sušiti na stojalo. Po treh dneh sušenja smo ponovno stehtali sediment. Mase vzorcev in sedimentov ter hitrosti centrifugiranja prikazuje **preglednica 11.**

Preglednica 11: Mase vzorcev (Xan001A, Xan002_N1 in Xan003_N16) s pogoji centrifugiranja, ter mase pridobljenih sedimentov – z izpiranjem z vodo

Številka poskusa	vzorec	m_{vzorca} (g)	hitrost centrifugiranja	$m_{1(H_2O)}$	$m_{2(H_2O)}$	$m_{sed/takoj}$	$m_{sed(3\ dñi)}$
			(o/min)	(g)	(g)	(g)	(g)
1	Xan001A	14,021	10.000	13,008	13,001	0,074	0,011
	Xan002_N1	14,043	10.000	13,006	13,022	0,093	0,028
	Xan003_N16	14,053	10.000	13,016	13,012	0,099	0,016
2	Xan001A	14,022	10.000	13,021	13,115	0,104	0,008
	Xan002_N1	14,047	10.000	13,024	13,074	0,097	0,020
	Xan003_N16	14,031	10.000	13,004	13,096	0,098	0,017

Vzorce, ki smo jih izpirali z vodo, smo centrifugirali pri manjših hitrostih zaradi večjega števila korakov centrifugiranja istega vzorca. Kljub temu, da so bile mase sedimentov dokaj podobne, rezultatov ni možno ustrezno ovrednotiti, ker so se koščki sedimenta odlomili med sušenjem in padli na delovno površino.

Iz pridobljenih rezultatov vidimo, da je metoda variabilna in zato rezultati nezanesljivi. Zaradi tega smo poskusili pogledati, kaj se dogaja z delci v suspenziji s pomočjo barvila, kar opisujemo v nadaljevanju.

4.1.2 Centrifugiranje z barvilm

S prostim očesom je bilo nemogoče oceniti delež sedimentiranega titanovega dioksida zaradi mlečno bele barve centrifugiranih vzorcev. Za lažjo oceno smo vzorcu dodali barvilo (lak oranžni E110) in opazovali spremembe po centrifugiranju. Poskus smo izvedli z robnima vzorcema, Xan002_N1 in Xan003_N16.

Postopek:

V centrifugirko smo dodali prbližno 14 g vzorca in na konici spatule barvilo ter rahlo pretresli, da se je barvilo enakomerno porazdelilo po vzorcu. Nato smo centrifugirali pri hitosti 10.000 obratov/min 10 minut. Del barvila se je posedel na dno centrifugirke, del pa je ostal porazdeljen v supernatantu. Poskušali smo preostanek barvila v supernatantu sedimentirati in smo vzorca ponovno centrifugirali pri večji hitrosti (16.000 obratov/min) 10 min. Bistvenih razlik po ponovnem centrifugiranju nismo opazili.

Ugotovili smo, da kljub dodatku barvila ne moremo natančno opisati, kaj se dogaja s titanovim dioksidom med centrifugiranjem, saj v obeh primerih ni sedimentiralo celotno barvilo.

4.2 Razvijanje metode redispergiranja

Z različnimi metodami redispergiranja smo želeli oceniti sposobnost suspenzije za vrnitev v prvotno vodno disperzijo.

4.2.1 Redispergiranje z vibracijskim mešalnikom

Izbrali smo dva vzorca, pri katerih je v predhodnih poskusih ostalo največ sedimenta, in sicer Xan_N2 in Xan_N16. Približno 14 g vzorca smo centrifugirali 10 min in potem poskušali redispergirati na vibracijskem mešalniku pri različnih frekvencah in časih. Supernatant smo izlili iz centrifugirke tako, da smo centrifugirko 30 sekund držali obrnjeno za 180° nad časo. Postopek smo ponovili z dvema vzorcema, pri katerih je ostalo najmanj sedimenta, in sicer Xan_N1 in Xan_N3. Sediment smo stehtali takoj po odlitju, naslednji dan ter čez tri dni. **Preglednica 12** prikazuje mase vzorcev in sedimentov, hitrosti centrifugiranja in pogoje redispergiranja za posamezen vzorec.

Preglednica 12: Mase vzorcev (Xan_N2 in Xan_N16) s pogoji centrifugiranja, redispergiranja, ter masami pridobljenih sedimentov

Številka poskusa	vzorec	m_{vzorca}	hitrost centrifugiranja	redispergiranje		$m_{sed/takoj}$	$m_{sed/noč}$	$m_{sed(3dni)}$
				frekvenca	čas			
		(g)	(o/min)	(1/min)	(s)	(g)	(g)	(g)
1	Xan_N2	14,074	20.000	600	10	1,280	0,179	0,145
	Xan_N16	14,058	20.000	600	10	3,096	0,821	0,769
2	Xan_N2	14,031	20.000	2200	10	1,352	0,166	0,131
	Xan_N16	14,003	20.000	2200	10	2,965	0,257	0,222
3	Xan_N2	14,007	10.000	2200	30	1,611	0,148	0,117
	Xan_N16	14,067	10.000	2200	30	2,148	0,256	0,216
4	Xan_N1	14,007	20.000	2200	30	0,744	0,075	0,045
	Xan_N3	14,001	20.000	2200	30	0,589	0,128	0,090

Ne glede na sestavo ali spreminjaanje parametrov (hitrost centrifugiranja, hitrost in čas redispergiranja na vibracijskem mešalniku) nam ni uspelo popolnoma redispergirati vzorca.

Za lažji pregled smo naredili preglednico (**preglednica 13**), ki prikazuje, za koliko odstotkov se je masa sedimenta spremenila glede na povprečno maso sedimenta brez redispergiranja (povzeto iz preglednic 12 in 20).

Preglednica 13: Primerjava mas vzorcev po redispergiranju z vibracijskem mešalnikom in vzorcev brez redispergiranja

vzorec	$m_{sed(3dn)} \text{ iz preglednice 12 z redispergiranjem}$	$m_{sed(3dn)} \text{ iz preglednice 20 brez redispergiranja}$	razlika
	(g)	(g)	(%)
Xan_N1	0,045	0,028	-60,71
Xan_N2	iz poskusa 1	0,145	2,68
	iz poskusa 2	0,131	12,08
	iz poskusa 3	0,117	21,48
Xan_N3	0,090	0,064	-40,63
Xan_N16	iz poskusa 1	0,769	3,75
	iz poskusa 2	0,222	72,22
	iz poskusa 3	0,216	72,97

Vidimo, da so rezultati zelo variabilni in je pri vzorcih kljub redispergiranju ostala večina sedimenta na dnu centrifugirke. Pri vzorcih Xan_N1 in Xan_N3 je ostalo celo več sedimenta po redispergiranju v primerjavi z istim vzorcem, ki ga nismo redispergirali. Sklepamo, da je metoda preveč variabilna za oceno stopnje redispergiranja.

4.2.2 Redispergiranje z ultrazvokom

Za boljšo primerjavo smo vzorce Xan_N1, Xan_N2, Xan_N3 in Xan_N16 redispergirali v ultrazvočni kadički.

Približno 14 g suspenzije smo centrifugirali pri hitrosti 20.000 obratov/min 10 minut. Nato smo jih dali v ultrazvočno kadičko za 1 minuto pri sobni temperaturi. Supernatant smo izlili iz centrifugirke tako, da smo centrifugirko 30 sekund držali obrnjeno za 180° nad čašo. Sediment smo stehtali takoj po odlitju, naslednji dan in čez 2 dni. Mase vzorcev in dobljenih sedimentov prikazuje **preglednica 14**.

Preglednica 14: Mase vzorcev (Xan_N1, Xan_N2, Xan_N3 in Xan_N16) in pridobljenih sedimentov, redispersiranih z ultrazvokom

vzorec	m_{vzorca}	$m_{sed/tako}$	$m_{sed/\text{čez noč}}$	$m_{sed(2\text{dni})}$
	(g)	(g)	(g)	(g)
Xan_N1	14,006	0,788	0,071	0,043
Xan_N2	14,062	1,297	0,189	0,155
Xan_N3	14,005	0,665	0,134	0,088
Xan_N16	14,049	3,307	1,086	1,030

Pri redispersiranju z ultrazvočno kadičko smo dobili podobne rezultate kot v prejšnjem primeru, ko smo vzorce redispersirali z vibracijskim mešalnikom (**preglednica 12**). Tudi z ultrazvokom nam ni uspelo popolnoma redispersirati vzorcev in je večina sedimenta ostala na dnu centrifugirke.

Tudi v tem primeru smo naredili tabelo (**preglednica 15**), ki prikazuje, za koliko odstotkov se je masa sedimenta spremenila glede na povprečno maso sedimenta brez redispersiranja (povzeto iz preglednic 14 in 20).

Preglednica 15: Primerjava mas vzorcev po redispersiranju z ultrazvokom z vzorci brez redispersiranja

vzorec	$m_{sed(2\text{dni})}$ iz preglednice 14	$m_{sed(3\text{dni})}$ iz preglednice 20	razlika
	(g)	(g)	(%)
Xan_N1	0,043	0,028	-53,57
Xan_N2	0,155	0,149	-4,03
Xan_N3	0,088	0,064	-37,50
Xan_N16	1,030	0,799	-28,91

Iz pridobljenih rezultatov je razvidno, da metoda ni primerna za oceno redispersiranja, saj je več sedimenta ostalo na dnu centrifugirke po redispersiranju kot brez njega.

4.2.3 Povečanje deleža titanovega dioksida in redispersiranje z vibracijskim mešalnikom

Zaradi majhne vsebnosti titanovega dioksida v začetnem vzorcu smo ga še dodali z namenom povečanja količine netopnih delcev v suspenziji in posledično večjih razlik v sedimentaciji. Dodali smo toliko titanovega dioksida, da je bila njegova vsebnost 5 % na celotno maso vzorca (vzorec Xan001A in dodani titanov dioksid). Vsi prejšnji vzorci so vsebovali 0,34 % titanovega dioksida. Na ta način smo povečali maso pridobljenega sedimenta, kar bi teoretično lahko omogočilo lažjo oceno redispersiranja. Od tako

pripravljenih vzorcev smo približno 14 g vlili v centrifugirko in centrifugirali 10 minut. Nato smo za lažjo oceno vpliva redispergiranja v vsakem poskusu le en vzorec dali na vibracijski mešalnik pri frekvenci 2200 1/min za 30 sekund. V **preglednici 16** so mase vzorcev in sedimentov, hitrosit centrifugiranja ter oznaka, katere vzorce smo dali na vibracijski mešalnik za 30 sekund pri frekvenci 2200 1/min.

Preglednica 16: Mase vzorca Xan001A+ TiO₂ in sedimentov s pogoji centrifugiranja ter opis katere vzorce smo redispergirali na vibracijskem mešalnikom

Številka poskusa	vzorec	m _{vzorca}	Hitrost centrifugiranja	vibracijski mešalnik	m _{sedimenta}
		(g)	(o/min)		(g)
1	Xan001A+ TiO ₂	14,000	20.000	Da	1,810
	Xan001A+ TiO ₂	14,029	20.000	Ne	1,730
2	Xan001A+ TiO ₂	14,000	5000	Da	1,285
	Xan001A+ TiO ₂	14,017	5000	Ne	1,474
3	Xan001A+ TiO ₂	14,030	2000	Da	0,558
	Xan001A+ TiO ₂	14,032	2000	Ne	0,828
4	Xan001A+ TiO ₂	14,003	5000	Da	1,500
	Xan001A+ TiO ₂	14,007	5000	Ne	1,525
5	Xan001A+ TiO ₂	14,010	5000	Da	1,230
	Xan001A+ TiO ₂	14,022	5000	Ne	1,373

Poskus z dodatkom titanovega dioksida smo ponovili pri najgostejšem in najredkejšem vzorcu (Xan_N16 in Xan_N1). Vzorce smo centrifugirali pri 5000 obratih/min 10 min ter od vsakega po enega dali na vibracijski mešalnik za 30 sekund pri frekvenci 2200 1/min, drugega ne. Mase vzorcev in sedimentov so v **preglednici 17**.

Preglednica 17: Mase vzorcev (Xan_N1 + TiO₂ in Xan_N16 + TiO₂) s pogoji centrifugiranja, redispergiranja ter masami pridobljenih sedimentov

Številka poskusa	vzorec	m_{vzorca}	vibracijski mešalnik	$m_{sedimenta}$
			(g)	(g)
1	Xan_N1+ TiO ₂	14,002	Da	1,315
	Xan_N1+ TiO ₂	14,010	Ne	1,498
	Xan_N16+ TiO ₂	14,008	Da	2,435
2	Xan_N16+ TiO ₂	14,009	Ne	2,796
	Xan_N1+ TiO ₂	14,070	Da	1,338
	Xan_N1+ TiO ₂	14,013	Ne	1,308
3	Xan_N16+ TiO ₂	14,026	Da	2,467
	Xan_N16+ TiO ₂	14,056	Ne	2,690
	Xan_N1+ TiO ₂	14,000	Da	1,445
	Xan_N1+ TiO ₂	14,012	Ne	1,388
	Xan_N16+ TiO ₂	14,033	Da	2,577
	Xan_N16+ TiO ₂	14,018	Ne	2,693

Po dodatku titanovega dioksida smo dobili dokaj variabilne rezultate. Kljub redispergiraju je ostala večina sedimenta v centrifugirki ne glede na obremenitev z vibracijskim mešalnikom. Pri nekaterih vzorcih (pri dveh vzorcih Xan_N1 + TiO₂ ter Xan_N16+ TiO₂, centrifugiranega pri 20000 obratih/min) je ostalo celo več sedimenta v centrifugirki po redispergirjanju kot brez njega. Sklepamo, da metoda ni ustrezna za oceno redispergirjanja zaradi velike variabilnosti in nenatančnosti metode.

4.3 Izdelava vzorcev po eksperimentalnem načrtu

Vzorce smo izdelali po postopku, opisanem v metodah. Vzorci, označeni z oznako M, so ponovno pripravljeni vzorci po eksperimentalnem načrtu in so enakovredni vzorcem z oznako N in enako številko. Edini vzorec, ki se razlikuje od opisane priprave, je Xan_N13(4H), ki smo ga pripravili zaradi primerjave, kako daljši čas homogeniziranja pri višji temperaturi vpliva na sestavo. Vzorec smo namesto 30 min homogenizirali 4 ure v vodni kopeli, ki smo je predhodno segreli na 60 °C, in hitrosti 12.000 obratov/min. Vizualno nismo opazili razlike med vzorcema Xan_N13 in Xan_N13(4H).

4.4 Reološko vrednotenje

S pomočjo sistema dveh vzporednih plošč smo proučevali, kako se reološke lastnosti spreminjajo v odvisnosti od sestave vzorcev in procesnih parametrov (sprememba temperature in homogenizacija). V **preglednici 18** so prikazane vrednosti, ki smo jih izmerili z reometrom. Razvidno je, da so povprečne vrednosti elastičnih modulov večje od viskoznih modulov ($G' > G''$), kar nakazuje na gelski značaj disperznega sistema. Lahko sklepamo, da v vzorcih prevladuje elastična komponenta nad plastično. Višja vrednost G' nakazuje na bolj čvrsti gel (16).

Preglednica 18: Izmerjene reološke vrednosti vzorcev gela ksantana, po eksperimentalnem načrtu

	POVPREČJE					Naklon		
	τ Pa	γ -	G' Pa	G'' Pa	$ \eta^* $ Pas	G' = G'' -	$k_{G'}$	$k_{G''}$
Xan002_N1	1,529	1,150	1,64215	1,036965	0,309103	0,9492	0,3983	0,2467
Xan003_N16	2,059	0,5431	3,367616	2,632825	0,680331	2,681	0,8713	0,4558
Xan001A	1,834	1,209	1,92641	1,191433	0,360498	1,087	0,4355	0,3141
Xan002A_N1	1,575	1,143	1,672614	1,07609	0,316538	0,9861	0,3791	0,2464
Xan003A_N16	4,902	1,205	4,500771	3,019465	0,862586	2,897	1,0133	0,4244
Xan_N1	1,475	1,052	1,591331	1,06851	0,305065	0,9923	0,3940	0,2825
Xan_N2	4,061	1,089	3,860879	2,699907	0,749819	2,649	0,9380	0,4092
Xan_N3	1,100	0,7984	1,31367	1,017657	0,264473	0,9768	0,3512	0,2682
Xan_N4	4,883	1,301	4,345035	2,781469	0,82109	2,680	1,4428	0,4656
Xan_N5	3,184	1,332	3,058212	1,822455	0,566601	1,708	0,6526	0,3191
Xan_N6	2,712	1,382	2,64562	1,533131	0,486655	1,406	0,7143	0,3244
Xan_N7	2,565	1,167	2,544199	1,659599	0,483454	1,569	0,5884	0,3292
Xan_N8	1,997	1,019	2,076801	1,455512	0,403627	1,390	0,5958	0,3821
Xan_N9	2,871	1,285	2,788996	1,686938	0,518764	1,588	0,6474	0,3331
Xan_N9(2.mer)	2,852	1,295	2,800449	1,67294	0,519178	1,561	0,6451	0,3243
Xan_N10	2,530	1,259	2,503217	1,557403	0,469213	1,439	0,6513	0,3965
Xan_N11	2,573	1,159	2,574232	1,677388	0,489004	1,585	0,6044	0,4094
Xan_N12	2,022	1,079	2,075614	1,416492	0,399939	1,328	0,5136	0,3339
Xan_N13	1,205	0,8413	1,394689	1,06223	0,27902	1,016	0,3890	0,2718
Xan_N13(4H)	1,222	0,7839	1,450624	1,152751	0,294895	1,104	0,4154	0,2977
Xan_N14	4,125	1,017	4,131732	2,933601	0,806481	2,880	1,0345	0,8039
Xan_N15	1,503	1,020	1,6192	1,121567	0,313488	1,045	0,4024	0,2781
Xan_N15(2.mer)	1,501	1,022	1,617679	1,12154	0,313286	1,041	0,3858	0,2755
Xan_N16	0,6363	0,1957	2,373788	2,277492	0,523566	2,300	0,8342	0,7432
Xan_N17	2,464	1,033	2,941526	1,849435	0,553003	1,696	0,5796	0,3717
Xan_N18	2,320	1,168	2,347839	1,514098	0,444634	1,414	0,5830	0,3382
Xan_N19	2,417	1,177	2,440523	1,553174	0,460409	1,453	0,5681	0,3253
Xan_M2	4,960	1,185	4,696805	3,091362	0,894906	2,981	1,2030	0,4476
Xan_M5	3,292	1,342	3,138382	1,882891	0,582488	1,740	0,6681	0,3836
Xan_M6	2,672	1,372	2,63628	1,522127	0,484492	1,398	0,5946	0,3049
Xan_M11	2,693	1,185	2,691139	1,724675	0,508717	1,619	0,6295	0,3360
Xan_M15	1,495	1,018	1,619639	1,117347	0,313163	1,040	0,4002	0,2728

S pomočjo računalniškega programa MODDE smo postavili linearni model. Uporabili smo metodo večkratne linearne regresije (MLR). Regresijski koeficienti predstavljajo vrednosti parametrov modela in opisujejo, kako različni dejavniki vplivajo na naslednje odzive: elastični modul (G'), viskozni modul (G''), viskoznost, točka križanja (CrossOver), naklon elastičnega modula (kG') in naklon viskoznega modula (kG'') pri frekvenčni metodi oscilacije (ocenjevane vrednosti). Večji je vpliv dejavnika, večji bo stolpec v diagramu.

Ujemanje modela s podatki (R^2), napovedna moč modela (Q^2), veljavnost in ponovljivost modela so pokazatelji uporabnosti modela. Model je dober, če so vrednosti pokazateljev znotraj navedenih mej:

Razlika med R^2 in $Q^2 < 0,2-0,3$

$Q^2 > 0,5$

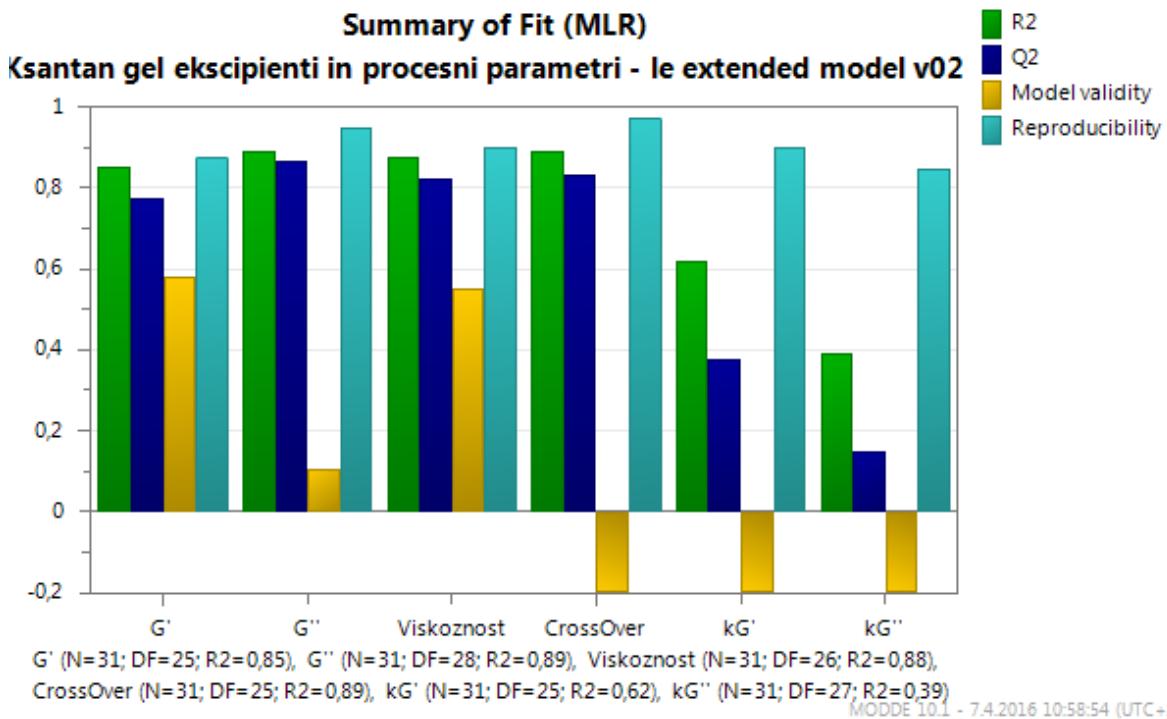
Veljavnost modela $> 0,25$

Ponovljivost modela $> 0,5$

V primeru, da je Q^2 večji od 0,9, je model odličen (21).

V model smo vključili 31 vzorcev, vse vzorce od Xan_N1 do Xan_N19 in njihove ponovitve z oznako M (Xan_M2, Xan_M5, Xan_M6, Xan_11 in Xan_M15). Ponovljeni vzorci nam kažejo na variabilnost procesa in meritev, zato so že v začetni sestavi trije vzorci enaki glede na sestavo (Xan_N17, Xan_N18 in Xan_N19). Prav tako smo vključili še testne vzorce (Xan002, Xan003, Xan001A, Xan003A) ter ponovljene reološke meritve dveh vzorcev (Xan_N92.mer in Xan_152.mer). Ponovljeni meritvi nam izboljšata točnost modela, vendar le za variabilnost analizne metode, ker smo iste vzorce ponovno pomerili.

Iz **slike 4** vidimo, da se dva od šestih odzivov dobro prilegata linearnemu modelu, in sicer za elastični modul (G') in viskoznost. Razlika med R^2 in Q^2 je pri vseh odzivih znotraj mej, toda je Q^2 pri naklonih za elastični (kG') in viskozni modul (kG'') je pod mejo (0,5). Veljavnost modela, ki je prikazana v obliki rumenega stolpca, je ustrezna (nad 0,25) zgolj pri dveh odzivih, in sicer pri elastičnem modulu (G') in viskoznosti. Ponovljivost je odlična za vse odzive.



Slika 4: Grafični prikaz parametrov (elastični modul, viskozni modul, viskoznost, točka križanja, naklona pri oscilacijskem testu za elastični in viskozni modul)

V nadaljevanju smo vsak odziv posebej prikazali v obliki štirih grafov (Replicates, Summary of fit, Coefficients in Residuals normal probability).

Prvi graf (Replicates) prikazuje spremembe v rezultatih za vse poskuse in omogoča hiter pregled nad neobdelanimi podatki. Vrednosti odzivov (zelene (poskusne) in modre (ponovljene) točke) so narisane v primerjavi s poskusnimi obratovanji in prikazujejo spremembo v odzivu za ponovljene poskuse. Kadar je variabilnost ponovljenih poskusov precej manjša od celotne variabilnosti, je rezultat idealen.

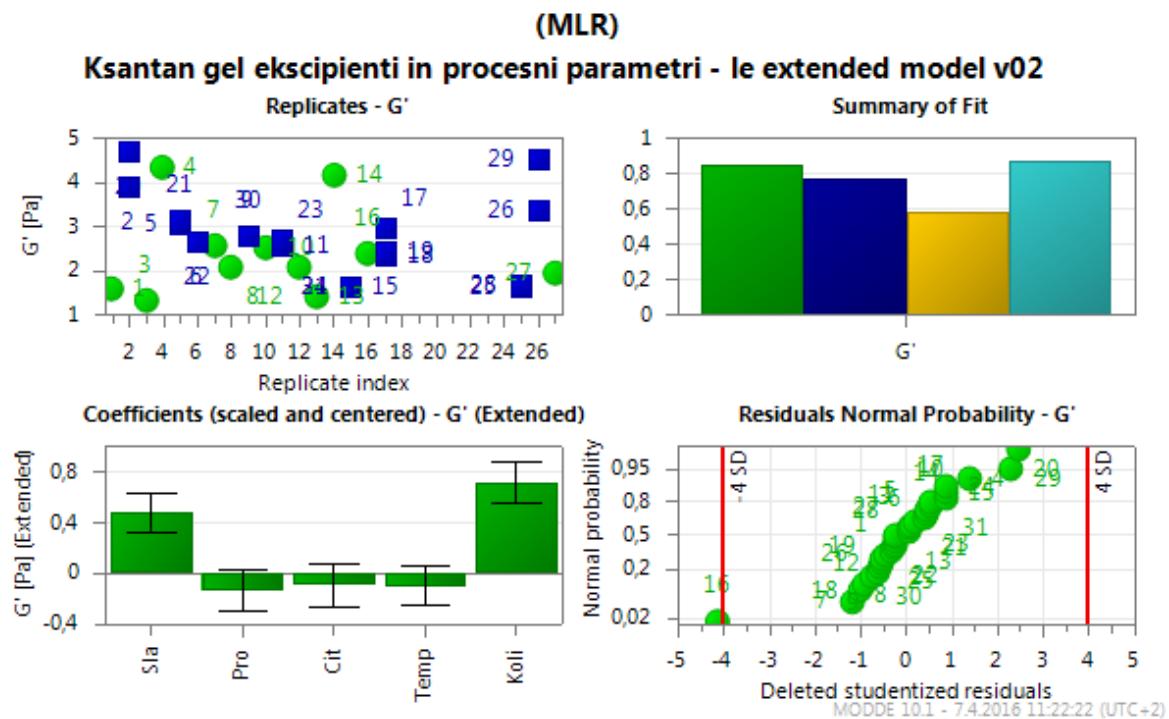
Drugi graf (Summary of fit) prikazuje kratek pregled statistike, ki je predstavljena v štirih parametrih (R^2 , Q^2 , veljavnost in ponovljivost).

Tretji graf (Coefficients) nam omogoča grafični prikaz značilnosti pogojev modela. Model je značilen, kadar je vrednost ne glede na smer dovolj oddaljena od $Y = 0$ in kadar stopnja negotovosti ne prehaja čez $Y = 0$.

Zadnji, četrти graf (Residuals normal probability) prikazuje ostanke (reziduale), ki so narisani na kumulativni normalni lestvici verjetnosti. Iz takega grafa lahko razberemo normalno porazdeljene ostanke in izstopajoče vrednosti. Ostanki so normalno porazdeljeni, kadar vrednosti iz poskusov ležijo na premici. Vrednosti izven območja ± 4 SD štejemo

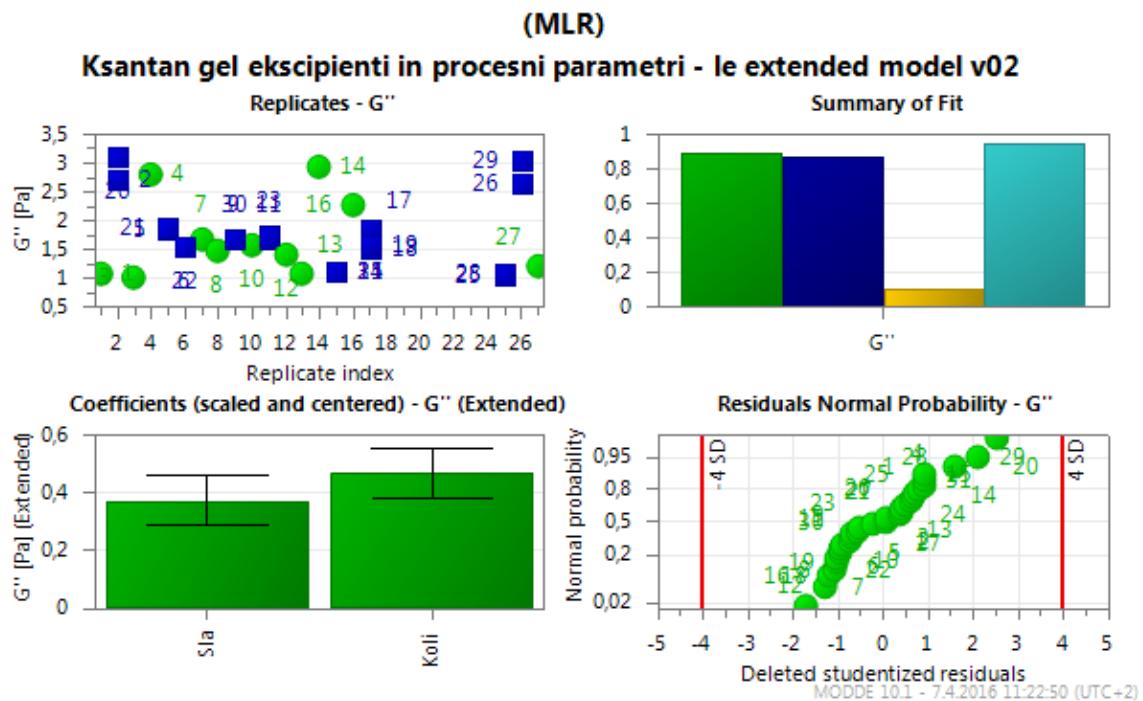
kot izstopajoče vrednosti in jih je treba proučiti kot možno napako. Ukrivljen vzorec nakazuje na nepravilno pretvorbo odziva ali pa model ni linearно oblikovan (21, 22).

Iz **slike 5** vidimo, da imata največji vpliv od proučevanih parametrov na elastični modul Glucidex (Sla) in Kolliphor. Model je dober kljub izstopajoči vrednosti pri rezidualih (poskus 16), ki smo jo vseeno upoštevali pri izgradnji modela.



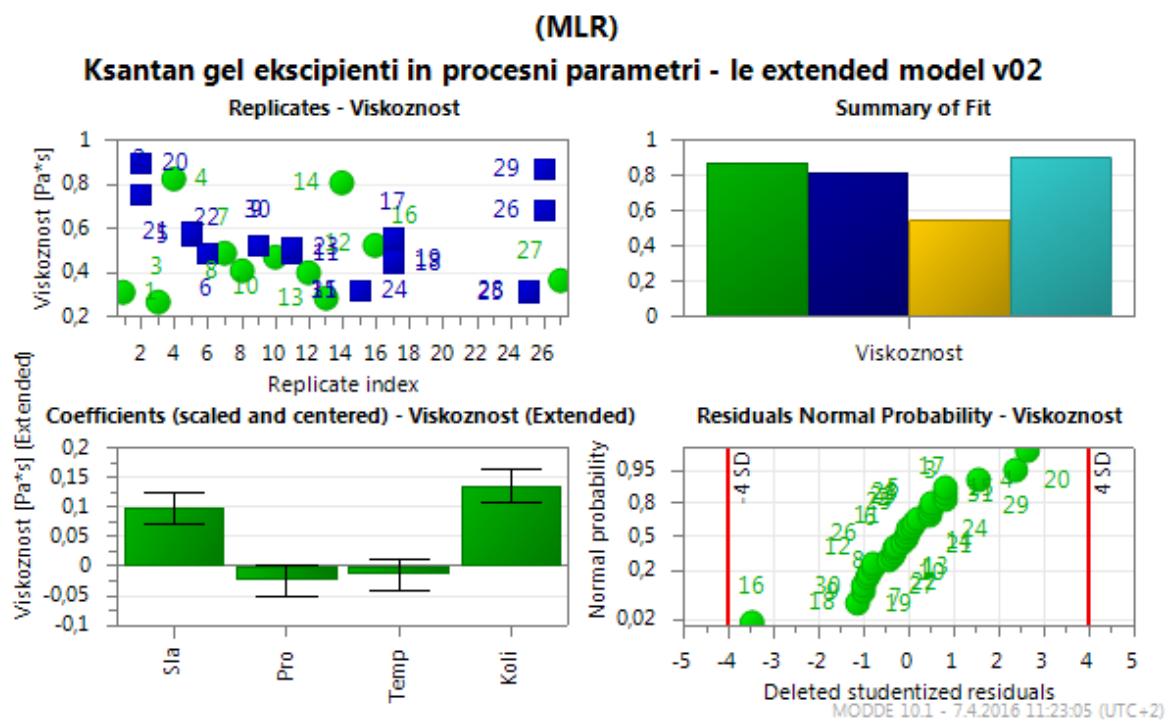
Slika 5: Grafični prikaz vpliva proučevanih parametrov na elastični modul (G')

Kot pri elastičnem modulu imata Glucidex (Sla) in Kolliphor največji vpliv tudi na viskozni modul (**slika 6**). Kljub boljšim ponovljenim vrednostim in brez izstopajočih vrednosti je model slabo veljaven.



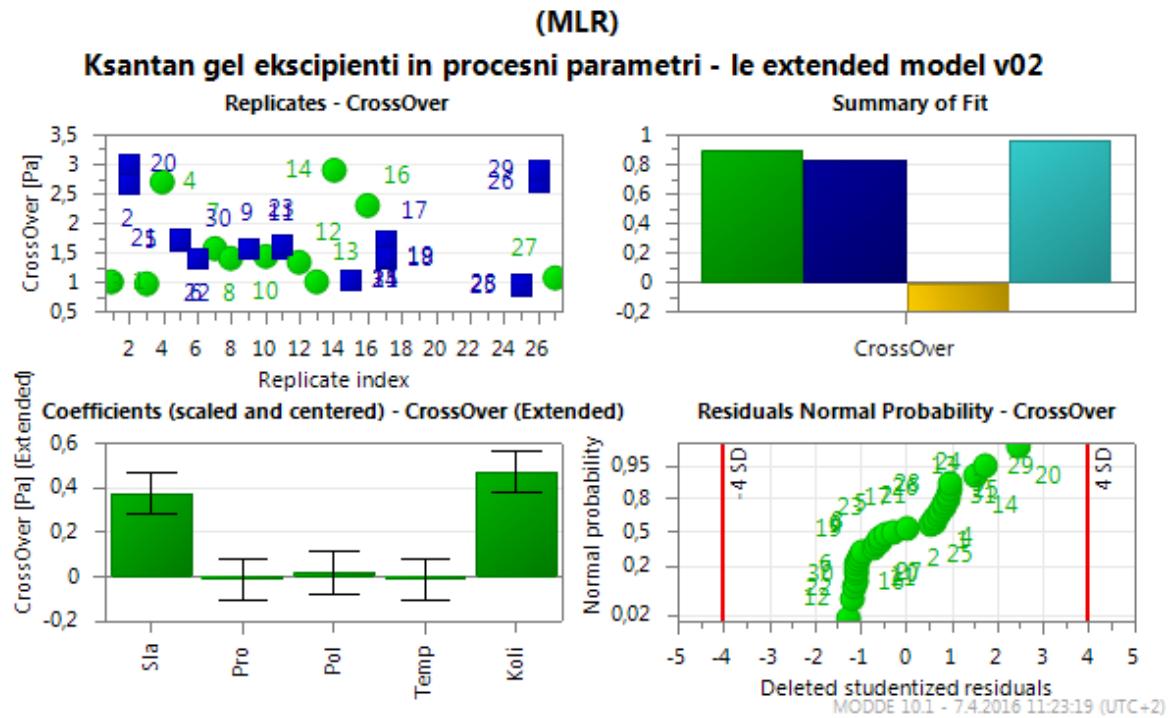
Slika 6: Grafični prikaz vpliva proučevanih parametrov na viskozni modul (G'')

Značilen vpliv na viskoznost imata Glucidex (Sla) in Kolliphor. Model je dober, čeprav poskus 16 pri rezidualih nekoliko odstopa od oblike "premice", je pa še vedno znotraj območja 4 SD (slika 7).



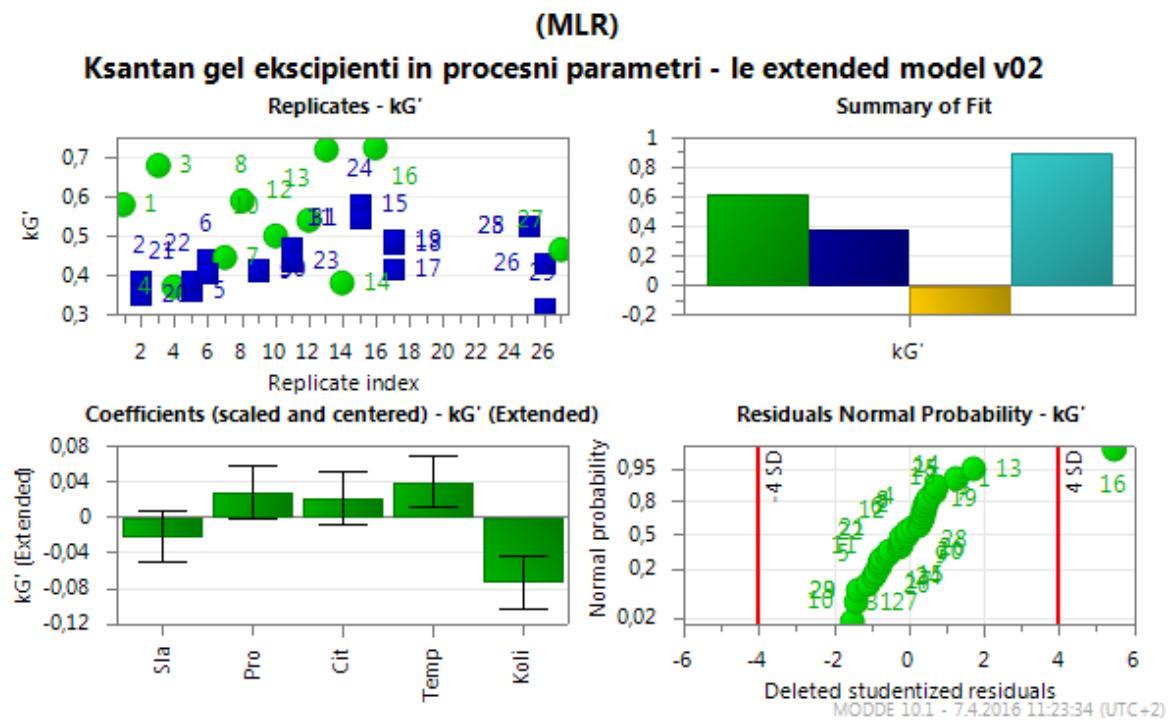
Slika 7: Grafični prikaz vpliva proučevanih parametrov na viskoznost

Pri točki križanja imata Glucidex (Sla) in Kolliphor tudi značilen vpliv. Čeprav se ponovljene vrednosti skoraj prekrivajo, je veljavnost modela slaba in gre v negativno vrednost. Rezidualne vrednosti so znotraj območja 4 SD in brez izstopajočih vrednosti, vendar kažejo na nekoliko ukrivljen vzorec (**slika 8**).



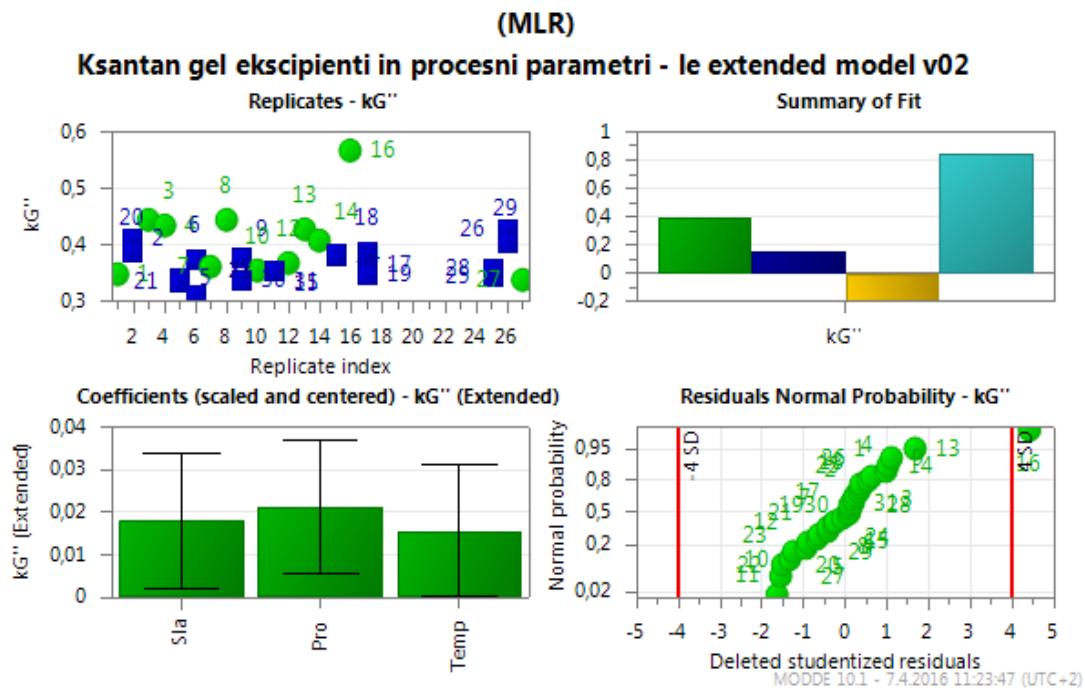
Slika 8: Grafični prikaz vpliva proučevanih parametrov na točko križanja (Crossover)

Največji vpliv na naklon elastičnega modula pri frekvenčni metodi imata Kolliphor in temperatura. Ponovljene vrednosti so dobre, vendar je model slab, saj je Q₂ pod 0,5 in gre ponovljivost v negativno vrednost. Rezidualne vrednosti so zelo blizu oblik premice, z eno izstopajočo vrednostjo (poskus 16), ki pa smo jo vseeno upoštevali pri izgradnji modela (**slika 9**).



Slika 9: Grafični prikaz vpliva proučevanih parametrov na naklon elastičnega modula pri frekvenčni metodi (kG')

Največji vpliv na naklon viskoznega modula pri frekvenčnem testu imajo Glucidex (Sla), simetikon (Pro) in temperatura. Kot pri prejšnjem odzivu za naklon elastičnega modula je model slab. Rezidualne vrednosti dobro sledijo obliki premice, vendar tudi tukaj imamo vrednost zunaj območja 4 SD (poskus 16) in smo jo prav tako upoštevali pri izgradnji modela (slika 10).



Slika 10: Grafični prikaz vpliva proučevanih parametrov na naklon viskoznega modula pri frekvenčni metodi (kG'')

Model je dober za dva od šestih odzivov, pri ostalih je vrednost za veljavnost modela manjša od 0,25, kar nakazuje na statistično značilne probleme v modelu, kot je prisotnost atipičnih vrednosti, napačen model ali problem v transformaciji modela. Majhna vrednost lahko nakazuje na manjkajoč izraz, kot je interakcija ali polje. Do nje lahko pride tudi v zelo dobrih modelih ($Q^2 > 0,9$) zaradi visoke občutljivosti v preizkuusu ali zelo dobrih ponovitev. Izstopajoče vrednosti prav tako lahko zmanjšajo sposobnost napovedovanja in zameglijijo interpretacijo regresijskega modela (21, 22).

4.5 Vrednotenje sedimentacije na osnovi DoE

Za vsak vzorec smo merili sediment v treh ponovitvah (oznake 1, 2 in 3 v preglednici) zaradi boljše medsebojne primerljivosti in ponovljivosti. Preostanke v centrifugirkah oz. sedimente smo tehtali takoj po centrifugiranju, čez eno ali dve noči in nato še čez 3 dni, kot prikazuje **preglednica 19**. Vzorci, katerih preostanek smo tehtali čez eno noč, so označeni z belo barvo. Z modro barvo so označeni vzorci, katerih preostanek smo tehtali čez dve noči.

Preglednica 19: Mase sedimentov takoj po odlitju supernatanta in sušenju čez noč, 2 noči ali čez 3 dni

	Msedimenta/takoj (g)			Msedimenta čez 1 ali 2 noči (g)			Msedimenta čez 3 dni (g)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Xan_N1	0,725	0,714	0,686	0,028	0,040	0,060	0,021	0,025	0,038
Xan_N2	1,497	1,365	1,591	0,199	0,160	0,185	0,165	0,130	0,152
Xan_N3	0,601	0,535	1,565	0,073	0,083	0,103	0,056	0,058	0,077
Xan_N4	1,513	1,480	1,529	0,151	0,212	0,161	0,138	0,180	0,145
Xan_N5	1,147	1,176	1,098	0,130	0,127	0,124	0,091	0,090	0,086
Xan_N6	0,983	0,824	0,959	0,076	0,087	0,131	0,071	0,078	0,103
Xan_N7	1,131	1,132	1,085	0,102	0,119	0,127	0,083	0,089	0,094
Xan_N8	0,768	0,759	0,850	0,085	0,153	0,156	0,070	0,119	0,118
Xan_N9	1,048	1,001	1,332	0,122	0,122	0,110	0,094	0,096	0,089
Xan_N10	0,802	1,004	0,999	0,155	0,169	0,152	0,107	0,119	0,106
Xan_N11	1,135	1,090	1,019	0,130	0,116	0,129	0,099	0,088	0,095
Xan_N12	0,916	0,843	0,908	0,160	0,149	0,177	0,114	0,108	0,130
Xan_N13	0,587	0,591	0,626	0,092	0,087	0,098	0,080	0,078	0,080
Xan_N13(4H)	0,726	0,651	0,698	0,102	0,085	0,075	0,085	0,082	0,076
Xan_N14	1,561	1,730	1,513	0,157	0,267	0,229	0,127	0,229	0,197
Xan_N15	0,999	0,800	0,982	0,140	0,155	0,150	0,086	0,098	0,093
Xan_N16	3,781	3,135	2,604	0,856	0,919	0,775	0,799	0,868	0,730
Xan_N17	0,978	0,990	0,989	0,119	0,107	0,125	0,085	0,080	0,090
Xan_N18	0,930	0,940	0,965	0,118	0,116	0,111	0,088	0,087	0,086
Xan_N19	0,991	1,057	0,936	0,121	0,128	0,117	0,090	0,093	0,086
Xan_M2	1,368	1,383	1,446	0,155	0,226	0,219	0,125	0,188	0,183
Xan_M5	1,034	1,200	1,215	0,128	0,146	0,159	0,091	0,109	0,123
Xan_M6	0,819	0,955	1,051	0,136	0,147	0,176	0,093	0,106	0,134
Xan_M11	1,062	1,100	1,031	0,152	0,132	0,130	0,110	0,097	0,095
Xan_M15	0,835	1,016	0,865	0,224	0,221	0,193	0,176	0,173	0,146

Izračunali smo povprečne mase sedimentov takoj po sedimentiranju, po eni noči, dveh nočeh ter čez tri dni. Izračunali smo tudi koeficient variacije (RSD), ki je mera relativne variabilnosti. Povprečne mase in RSD prikazuje **preglednica 20.**

Največja povprečna masa sedimenta takoj po odlitju supernatanta in sušenju je bila pri vzorcu Xan_N16, ki je vseboval največ sestavin in se je pokazal kot najviskoznejši.

Rezultati so pričakovani, ker so bili vzorci z manj sestavinamo manj viskozni in obratno, vzorci z več sestavin in manj vode so bili viskoznejši. Viskoznejši vzorci so počasneje tekli in so se bolj zadrževali na stenah centrifugirk. Posledično so se poleg primarnega sedimenta titanovega dioksida posušile še druge sestavine, ki so prispevale k celotni masi sedimenta.

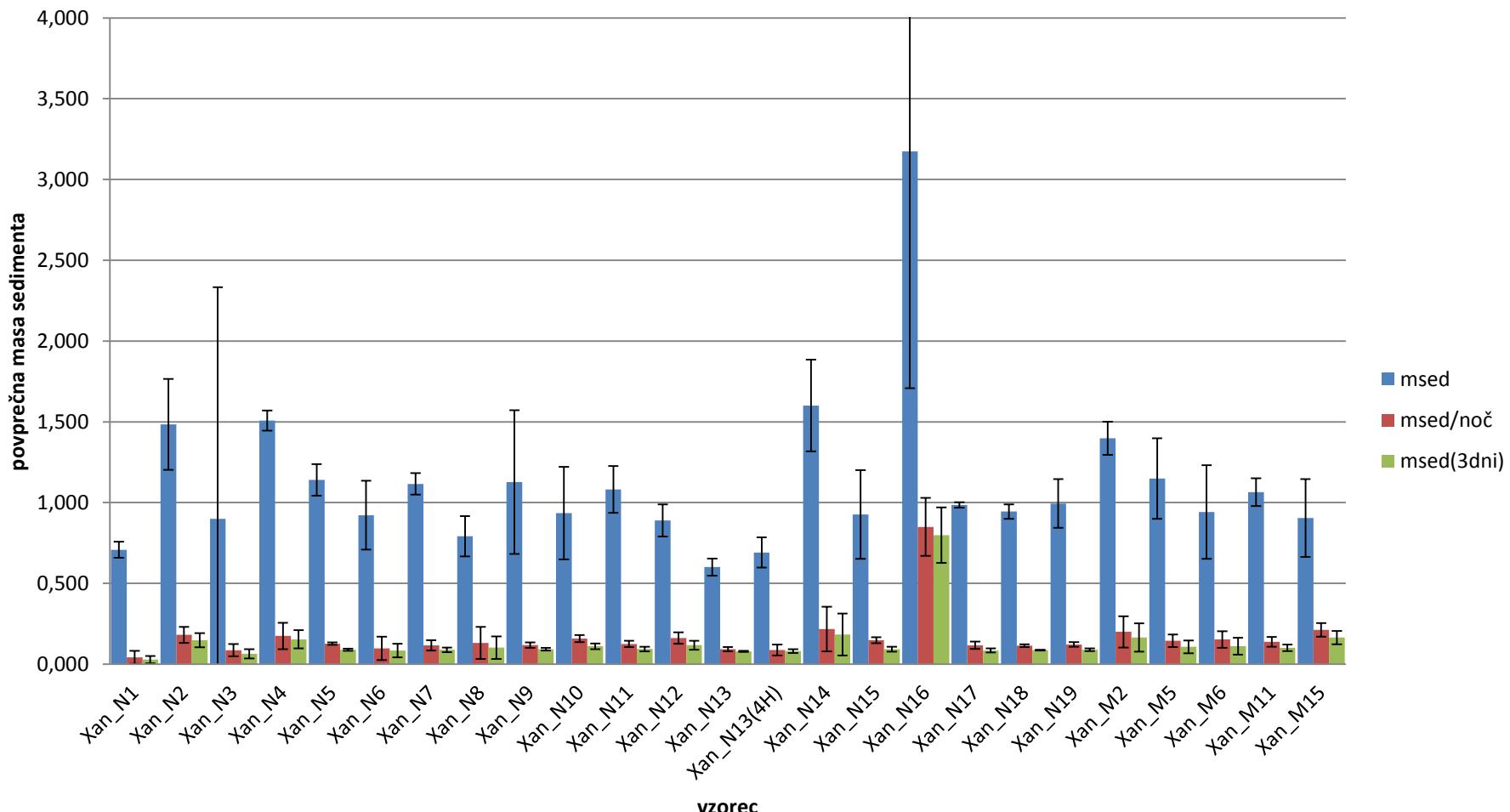
Takoj po odlitju supernatanta ima najmanjše odstopanje podatkov vzorec Xan_N17 z RSD 0,676 %, ki se je s sušenjem povečal. Največje odstopanje smo zaznali pri Xan_N3 z RSD 64,039 %, ki se je s sušenjem vzorca zmanjšala. Kljub temu, da se je s sušenjem relativna standardna deviacija zmanjšala, je ostala še vedno velika glede na ostale vzorce.

Preglednica 20: Povprečne mase sedimentov in RSD-ji takoj po odlitju supernatanta in sušenju čez noč, 2 noči ali čez 3 dni

vzorec	Povprečje (g)			RSD (%)		
	msed/takoj	msed/čez noč	msed(3dni)	msed/takoj	msed/čez noč	msed(3dni)
Xan_N1	0,708	0,043	0,028	2,839	37,889	31,744
Xan_N2	1,484	0,181	0,149	7,649	10,895	11,874
Xan_N3	0,900	0,086	0,064	64,039	17,693	18,205
Xan_N4	1,507	0,175	0,154	1,658	18,731	14,580
Xan_N5	1,140	0,127	0,089	3,457	2,362	2,973
Xan_N6	0,922	0,098	0,084	9,297	29,697	20,027
Xan_N7	1,116	0,116	0,089	2,406	11,006	6,212
Xan_N8	0,792	0,131	0,102	6,329	30,574	27,367
Xan_N9	1,127	0,118	0,093	15,890	5,871	3,877
Xan_N10	0,935	0,159	0,111	12,322	5,719	6,537
Xan_N11	1,081	0,125	0,094	5,408	6,248	5,923
Xan_N12	0,889	0,162	0,117	4,504	8,708	9,692
Xan_N13	0,601	0,092	0,079	3,568	5,965	1,456
Xan_N13(4H)	0,692	0,087	0,081	5,480	15,630	5,658
Xan_N14	1,601	0,218	0,184	7,118	25,667	28,300
Xan_N15	0,927	0,148	0,092	11,900	5,149	6,528
Xan_N16	3,173	0,850	0,799	18,575	8,493	8,636
Xan_N17	0,986	0,117	0,085	0,676	7,833	5,882
Xan_N18	0,945	0,115	0,087	1,908	3,135	1,149
Xan_N19	0,995	0,122	0,090	6,091	4,564	3,917
Xan_M2	1,399	0,200	0,165	2,958	19,564	21,181
Xan_M5	1,150	0,144	0,108	8,737	10,786	14,899
Xan_M6	0,942	0,153	0,111	12,380	13,506	18,876
Xan_M11	1,064	0,138	0,101	3,247	8,816	8,091
Xan_M15	0,905	0,213	0,165	10,715	8,040	10,014

Povprečne mase sedimentov smo prikazali v obliki stolpičastega diagrama s 95-odstotnimi intervali zaupanja (**slika 11**). Iz diagrama je razvidno, da je v vzorcu Xan_N16 ostalo največ sedimenta takoj po odlitju supernatanta kot tudi po sušenju. Razvidno je tudi, da so intervali zaupanja pri večini stolpcov značilni. Izstopajoče vrednosti vidimo le pri dveh vzorcih, Xan_N3 in Xan_N16.

Povprečne mase sedimentov z intervali zaupanja (95%)



Slika 11: Grafični prikaz povprečnih mas sedimentov z intervali zaupanja

Mase sedimentov (iz **preglednico 19**) po dveh oz. treh dneh sušenja smo statistično obdelali v računalniškem programu MiniTab. Najprej smo preverili, če so variance enake. Postavili smo dve hipotezi, in sicer ničelno in alternativno s stopnjo tveganja α 0,05.

Ničelna hipoteza (H_0): Vse variance so enake.

Alternativna hipoteza (H_1): Vse variance niso enake.

S pomočjo Levenovega testa smo izračunali p-vrednost (0,160), ki je manjša od stopnje tveganja α (0,05), torej ničelno hipotezo lahko sprejmemo. Se pravi, variance so enake oz. niso statistično različne (signifikantne) (**slika 12**).

Xan_N10	3	0,0072342	(*; *)
Xan_N11	3	0,0055678	(*; *)
Xan_N12	3	0,0113725	(*; *)
Xan_N13	3	0,0011547	(*; *)
Xan_N13(4H)	3	0,0045826	(*; *)
Xan_N14	3	0,0521664	(*; *)
Xan_N15	3	0,0060277	(*; *)
Xan_N16	3	0,0690000	(*; *)
Xan_N17	3	0,0050000	(*; *)
Xan_N18	3	0,0010000	(*; *)
Xan_N19	3	0,0035119	(*; *)
Xan_M2	3	0,0350190	(*; *)
Xan_M5	3	0,0160416	(*; *)
Xan_M6	3	0,0209523	(*; *)
Xan_M11	3	0,0081445	(*; *)
Xan_M15	3	0,0165227	(*; *)

Individual confidence level = 99,8%

Tests

Method	Test	
	Statistic	P-Value
Multiple comparisons	-	0,001
Levene	1,39	0,160

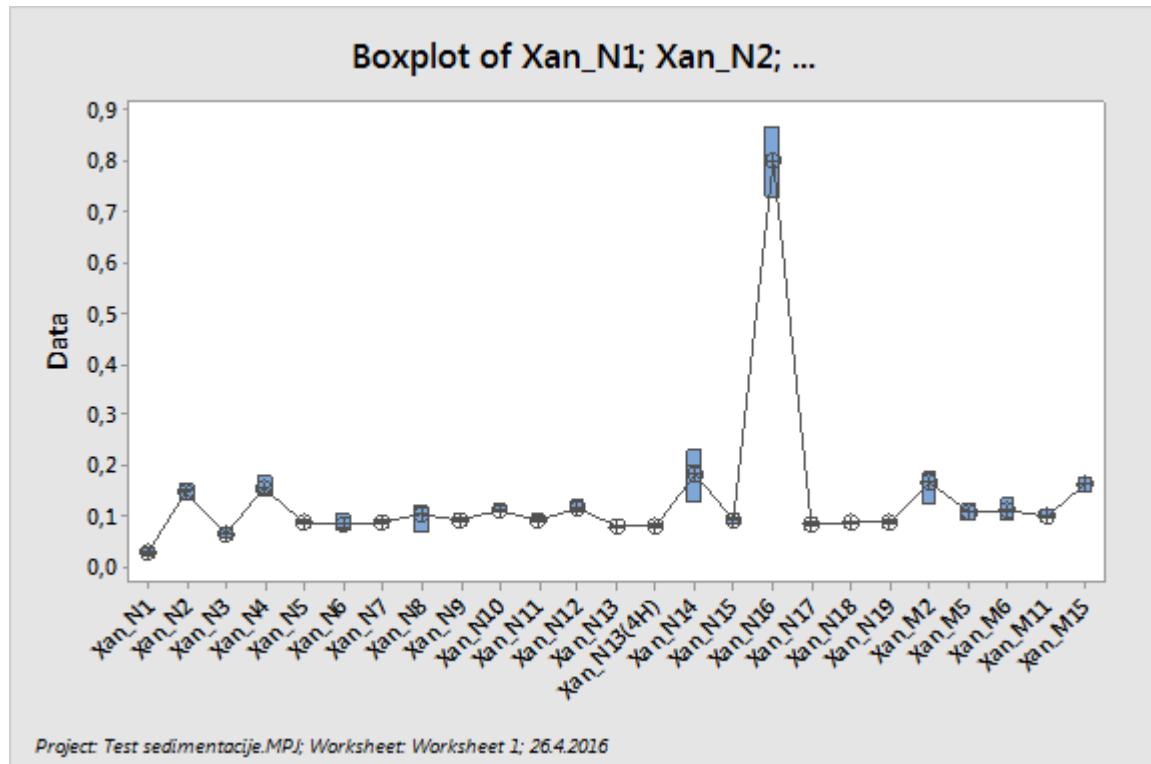
Slika 12: Levenov test za sedimente po dveh oz. treh dneh sušenja na osnovi DoE eksperimentov

Nato smo naredili enosmerni ANOVA test in domnevali, da so variance enake. Postavili smo novi hipotezi s stopnjo tveganja α 0,05.

Ničelna hipoteza (H_0): Vsa povprečja so enaka.

Alternativna hipoteza (H_1): Najmanj eno povprečje je različno.

Izračunana p-vrednost (0,000) je manjša od stopnje tveganja α (0,05), torej zavrzemo ničelno in sprejmemo alternativno hipotezo (**sliki 13 in 14**).



Slika 13: Boxplot diagram za sedimente po dveh oz. treh dneh sušenja na osnovi DoE

One-way ANOVA: Xan_N1; Xan_N2; Xan_N3; Xan_N4; Xan_N5; Xan_N6; Xan_N7; Xan_N8; ...

* NOTE * Cannot draw the interval plot for the Tukey procedure. Interval plots for comparisons are illegible with more than 45 intervals.

Method

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level $\alpha = 0,05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values
Factor 25 Xan_N1; Xan_N2; Xan_N3; Xan_N4; Xan_N5; Xan_N6; Xan_N7; Xan_N8; Xan_N9;
Xan_N10; Xan_N11; Xan_N12; Xan_N13; Xan_N13(4H); Xan_N14; Xan_N15; Xan_N16;
Xan_N17; Xan_N18; Xan_N19; Xan_M2; Xan_M5; Xan_M6; Xan_M11; Xan_M15

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	24	1,47485	0,061452	125,88	0,000
Error	50	0,02441	0,000488		
Total	74	1,49926			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0220946	98,37%	97,59%	96,34%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
Xan_N1	3	0,02800	0,00889	(0,00238; 0,05362)
Xan_N2	3	0,1490	0,0177	(0,1234; 0,1746)
Xan_N3	3	0,06367	0,01159	(0,03804; 0,08929)
Xan_N4	3	0,1543	0,0225	(0,1287; 0,1800)
Xan_N5	3	0,08900	0,00265	(0,06338; 0,11462)
Xan_N6	3	0,08400	0,01682	(0,05838; 0,10962)
Xan_N7	3	0,08867	0,00551	(0,06304; 0,11429)
Xan_N8	3	0,1023	0,0280	(0,0767; 0,1280)
Xan_N9	3	0,09300	0,00361	(0,06738; 0,11862)
Xan_N10	3	0,11067	0,00723	(0,08504; 0,13629)
Xan_N11	3	0,09400	0,00557	(0,06838; 0,11962)
Xan_N12	3	0,11733	0,01137	(0,09171; 0,14296)
Xan_N13	3	0,079333	0,001155	(0,053711; 0,104955)
Xan_N13(4H)	3	0,08100	0,00458	(0,05538; 0,10662)
Xan_N14	3	0,1843	0,0522	(0,1587; 0,2100)
Xan_N15	3	0,09233	0,00603	(0,06671; 0,11796)
Xan_N16	3	0,7990	0,0690	(0,7734; 0,8246)
Xan_N17	3	0,08500	0,00500	(0,05938; 0,11062)
Xan_N18	3	0,087000	0,001000	(0,061378; 0,112622)
Xan_N19	3	0,08967	0,00351	(0,06404; 0,11529)
Xan_M2	3	0,1653	0,0350	(0,1397; 0,1910)
Xan_M5	3	0,10767	0,01604	(0,08204; 0,13329)
Xan_M6	3	0,1110	0,0210	(0,0854; 0,1366)
Xan_M11	3	0,10067	0,00814	(0,07504; 0,12629)
Xan_M15	3	0,16500	0,01652	(0,13938; 0,19062)

Pooled StDev = 0,0220946

Slika 14: Enosmerni Anova test za sedimente po dveh oz. treh dneh sušenja na osnovi DoE

Naredili smo še Tukey Pairwise primerjavo, da vidimo, kateri vzorci so enaki in kateri različni. Vzorci, ki ne delijo črke, so značilno različni in iz **slike 15** je razvidno, da je to vzorec Xan_N16, saj edini ima črko A.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Xan_N16	3	0,7990	A
Xan_N14	3	0,1843	B
Xan_M2	3	0,1653	B C
Xan_M15	3	0,16500	B C
Xan_N4	3	0,1543	B C D
Xan_N2	3	0,1490	B C D E
Xan_N12	3	0,11733	B C D E F
Xan_M6	3	0,1110	C D E F
Xan_N10	3	0,11067	C D E F
Xan_M5	3	0,10767	C D E F
Xan_N8	3	0,1023	C D E F
Xan_M11	3	0,10067	C D E F
Xan_N11	3	0,09400	D E F G
Xan_N9	3	0,09300	D E F G
Xan_N15	3	0,09233	D E F G
Xan_N19	3	0,08967	D E F G
Xan_N5	3	0,08900	D E F G
Xan_N7	3	0,08867	D E F G
Xan_N18	3	0,087000	D E F G
Xan_N17	3	0,08500	D E F G
Xan_N6	3	0,08400	E F G
Xan_N13(4H)	3	0,08100	E F G
Xan_N13	3	0,079333	E F G
Xan_N3	3	0,06367	F G
Xan_N1	3	0,02800	G

Means that do not share a letter are significantly different.

Slika 15: Tukey Pairwise primerjava za sedimente po dveh oz. treh dneh sušenja na osnovi DoE

5 SKLEP

V magistrski nalogi smo želeli razviti analizno metodo, ki bi omogočala hitro ovrednotenje posedanja delcev. Pri razvijanju metode sedimentiranja smo se osredotočili na centrifugiranje treh vzorcev (Xan001, Xan002_N1 in Xan003_N16) pri različnih obratih in časih za oceno prisotnosti/vsebnosti sedimenta v različnih časovnih intervalih (tako po odlitju supernatanta, po sušenju čez noč in čez tri dni). Vzoreci so glede na sestavo pokrivali robove in sredino testiranih vzorcev. Iz pridobljenih rezultatov smo ugotovili, da smo najustreznejše sedimente (ne pa idealne) dobili pri hitrosti centrifugiranja pri 20.000 obratih/min in času 10 min. Centrifugirko smo nato obrnili in odlili supernatant ter sediment pustili sušiti. Na ta način smo tudi pridobili sedimente vzorcev, pripravljenih po DoE eksperimentalnem načrtu.

Poskušali smo tudi oceniti redisperzibilnost delcev v gelu. Poskus smo izvedli z vzorci, pri katerih je v predhodnih poskusih ostalo največ (Xan_N2 in Xan_N16) in najmanj sedimenta (Xan_N1 in Xan_N3). Redispergirali smo jih z vibracijskim mešalnikom pri različnih frekvencah in časih ter z ultrazvokom. Poskus smo ponovili ob povečanju deleža titanovega dioksida (na 5 % glede na celotno maso vzorca) zaradi majhne začetne vsebnosti (0,34 %). Na ta način bi povečali maso pridobljenega sedimenta in s tem lažje ocenili metodo redispergiranja. Glede na pridobljene rezultate sklepamo, da metoda ni ustrezna zaradi velike variabilnosti v rezultatih.

S pomočjo računalniškega programa MODDE smo načrtovali eksperimente, ki smo jih nato reološko ovrednotili. Ocenjevali smo vpliv pomožnih snovi in procesnih parametrov na reološke lastnosti gela ksantana. Največji vpliv na reološke lastnosti sta imela dodatek Glucidexa in Kolliphorja, saj nam je za njih uspelo postaviti dober model. To pomeni, da je model imel dobro napovedno moč in smo lahko napovedali, kako se bodo obnašali vzorci iz eksperimentov, ki smo jih izvedli pri določenih spremenljivkah, oziroma lahko določimo spremenljivke procesa, da dobimo vzorce z želenimi lastnostmi. Reološki grafi nakazujejo še na vpliv temperature in simetikona pri dveh modelih (kG' in kG''). Te povezave pa ne moremo potrditi, ker sta modela slaba.

Na koncu smo še statistično ovrednotili sedimente vzorcev, pripravljenih na osnovi DoE eksperimentov. Statistično značilno različen se je pokazal vzorec, ki je vseboval največ sestavin (Xan_N16).

6 LITERATURA

1. Uradni list. *Zakon o zdravilih, 5. člen, (1)*, <https://www.uradni-list.si/1/content?id=72463>, dostopno avgust 2015
2. Lajovic J.: *Priročnik o zdravilih*. Mednarodni forum znanstvenoraziskovalnih družb, GIZ: 25-30
3. *Farmacevtski terminološki slovarček*. <http://isjfr.zrc-sazu.si/sl/terminologisce/slovarji/farmacevtski#v>, dostopno avgust 2015
4. Sinko P.J., *Martins's Physical Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Lippincott Williams Wilkins 2006, Baltimor, Philadelphia: 469-470, 499-501, 505
5. Lieberman H.A., Reiger M.M., Banker G.S.: *Pharmaceutical dosege forms: disperse systems volume 2*. Marcel Dekker 1989, New York: 217, 231-264, 286-289
6. flotation fundamentals
http://www.chem.mtu.edu/chem_eng/faculty/kawatra/Flotation_Fundamentals.pdf , dostopno februar 2016
7. Kulshreshtha A.K., Singh O.N.; Wall G.M.: *Pharmaceutical suspension. From formulation development to manufacturing*, Springer 2010, New York: 2,45, 56-57, 273
8. Swarbrick J., *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. Informa Healthcare 2007, New York: 3597-3598
9. Bogataj M., Mrhar A., Kerec Kos M., Trontelj J., Vovk T. Pišlar M.: *Biofarmacija s farmakokinetiko. Učbenik za študente 4. letnika Enovitega magistrskega študija farmacije in študente 1. letnika Magistrskega študija industrijske farmacije*. 2013, Ljubljana: 5
10. <http://www.cargillfoods.com/lat/en/products/hydrocolloids/xanthan-gum/molecular-structure/index.jsp>, dostopno april 2016
11. Obreza A., Bevc B., Baumgartner S., Sollner Dolenc M., Humar M.: *Pomožne snovi v farmaciji: od njihovega poimenovanja do vloge v zdravilu. Spletni učbenik za študente farmacije, industrijske farmacije in kozmetologije 2015*; http://wwwffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/Knjiznica/e-knjige/Pomozne_snovi.pdf, dostopno januar 2016
12. Gracia-Ochoa F., Santos V.E., Casas V.A., Gomez E.: *Xanthan gum: production, recovery, and properties*. Biotechnology advances 2000; 18: 549-579
13. Rowe R.C., Skeskey P.J., Quinn M.E., *Handbook od Pharmaceutical Excipients*. APhA 2009, London, Chicago: 181-183, 418-420, 542-544, 549-553, 619-620, 640-642, 741-743, 782-784
14. Žumer M., Zupančič Valant A., Florjančič U., Mesec A.: *Seminar iz aplikativne reologije*, FKKT, 1997, Ljubljana: 2, 5, 7-13, 31-32, 34-39
15. Zupančič Valant A. *Uvod v reologijo*. FKKT 2007, Ljubljana: 7-8, 10-11, 15, 29-33, 35, 49-56

16. Mezger TG. *The rheology handbook; for users of rotational and oscillatory rheometers.* Vincentz 2011, Hannover: 18, 21-22, 26-27, 139-144, 146-147, 159-160
17. Eriksson L., Johansson E., Kettaneh-Wold N., Wikström C., Wold S. Design of experiments. Principles and applications. Umeå: Umetrics AB, 2008: 7-8, 22-25, 27-29, 33-37
18. The European Pharmacopoeia, 5th. Edition, Council of Europe, Strasbourg 2005: 1307, 1948
19. http://www.pharma-ingredients.bASF.com/Statements/Technical%20Informations/EN/Pharma%20Solutions/03_111141e_Kolliphor%20RH%2040.pdf , dostopno februar 2016
20. <http://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=2884> , dostopno marec 2016
21. User guide to BioPAT® MODDE Version 10.1.
http://www.sartorius.co.jp/fileadmin/media/global/products/Manual_BioPAT_MODDE_10.1.pdf ,
dostopno marec 2016
22. Design of Experiments (DOE) Pharma Applications,
http://www.metabolomics.se/Courses/MVA/DOE_Handouts_Exercises_Solutions_Wed.pdf ,
dostopno marec 2016