

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO



SARA MALAČIČ

**ŠTUDIJA TERMIČNIH IN MEHANSKIH LASTNOSTI
SLADKORNIH TALIN**

**STUDY OF THERMAL AND MECHANICAL CHARACTERISTIC
OF SUGAR MELTS**

MAGISTRSKA NALOGA

Ljubljana, 2013

Magistrsko delo sem opravljala pod vodstvom prof. dr. Stanka Srčiča in somentorja mag. Dušana Preloga mag.farm., na Fakulteti za farmacijo v Ljubljani. Del meritev je bil opravljen tudi na Naravoslovnotehniški fakulteti, Univerze v Ljubljani.

Za strokovno vodstvo, pomoč in nasvete se zahvaljujem mentorju, prof. dr. Stanku Srčiču, mag. farm. in somentorju, mag. Dušanu Prelogu, mag. farm.

Posebej bi se iskreno zahvalila delovni mentorici asist. dr. Biljani Janković in asist. Zoranu Lavriču, ki sta mi pomagala opraviti analize, me usmerjala in bila v veliko pomoč.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko delo samostojno izdelala, pod mentorstvom prof. dr. Stanka Srčiča, mag.farm. in somentorja mag. Dušana Preloga mag.farm.

Ljubljana, januar 2013

Predsednik komisije: prof. dr. Albin Kristl, mag. farm.

Član komisije: doc. dr. Tomaž Bratkovič, mag. farm.

KAZALO VSEBINE

KAZALO PREGLEDNIC	VI
KAZALO HISTOGRAMOV	VI
ABSTRACT	VIII
SEZNAM OKRAJŠAV	IX
1. UVOD	1
1.1. Osnove taline in amorfne oblike.....	1
1.1.1. Lastnosti amorfnih oblik snovi.....	1
1.2. Uporaba sladkornih talin.....	2
1.2. Tehnološki postopki s talinami	3
2. UPORABLJENE ANALIZNE METODE	6
2.1. TERMOANALIZA.....	6
2.2. MEHANSKA ANALIZA	7
3. NAMEN DELA	14
4. EKSPERIMENTALNI DEL.....	15
4.1. MATERIALI.....	15
4.2. SESTAVA TRDNIH SLADKORNIH TALIN.....	17
4.2.1.Saharoza	17
4.2.2. Škrobní sirup	18
4.2.3. Maltitol	19
4.2.4. Maltitolov sirup	20
4.2.5. Invertni sladkor.....	21
4.2.6. Mlečni sladkor ali laktoza.....	21
4.2.7. Sorbitol	22

4.2.8. Manitol	22
4.2.9. Organske kisline	23
4.2.10. Ostali dodatki pri izdelavi pastil iz slatkornih talin	23
4.3. APARATURE	24
4.4. METODE DELA	24
4.4.1. Določanje termičnih lastnosti talin s pomočjo diferenčne dinamične kalorimetrije – DSC	24
4.4.2. TGA analiza.....	25
4.4.3. Določanje mehanskih lastnosti talin s pomočjo nanoindenterja.....	25
4.4.4. Določanje mehanskih lastnosti trdnih talin z reometrom	25
4.5. PRIPRAVA OBLOŽENIH TRDNIH FARMACEVTSKIH OBLIK S TEHNOLOGIJO SLADKORNIH TALIN	26
4.5.1. Priprava osnovne taline	27
4.5.2. Priprava sladkorne taline	27
4.5.3. Priprava Osnovne taline BS1.....	28
4.5.4. Priprava talin BS1-D1 in BS1-D2	28
4.5.5. Hlajenje, drobljenje in mletje taline	28
4.5.6. Priprava granulata in zmesi za tabletiranje.....	29
4.5.7. Tabletiranje in sintranje.....	29
4.5.8. Oblaganje, glajenje, sušenje in loščenje	29
5. REZULTATI IN RAZPRAVA.....	32
5.1. Rezultati termične analize.....	32
5.2. Rezultati mehanske analize	38
6. SKLEP	43
7. LITERATURA	44

KAZALO SLIK

Slika 1: Primerjava med standardno komoro za granuliranje z zvrtinčenimi plastmi (levo) in komoro za oblaganje s talinami (desno) (13)	5
Slika 2: Prikaz plastičnega in elastičnega področja podlage, pri merjenju trdote (21)	8
Slika 3: Graf odvisnosti napetosti od deformacije (27).....	8
Slika 4: Nanoindenter	10
Slika 5: Shematski prikaz nanoindenterja (27).....	10
Slika 6: Sila konice v odvisnost od globine vtisa (20)	11
Slika 7: Deformacijske energije pri deformaciji vzorca z vtiskovanjem, $W_{el\ single}$ - energija elastične deformacije, $W_{pl\ single}$ - energija plastične deformacije. (27).....	11
Slika 8: Reometer (Physica MCR-301) (28)	13
Slika 9: Odvisnost relativnega skrčka od tlaka stiskanja (rdeči del krivulje predstavlja Hookov zakon)	13
Slika 10: Izgledi različnih vzorcev slatkornih talin: a) Osnovna talina BS 1, b) Osnovna talina slatkorna S2, c) Izdelek BS1-D1, d) Izdelek vitaminski S-D3, e) Izdelek BS1-D2	16
Slika 11: Saharoza	17
Slika 12: Struktura škroba (amiloza 1-4 α - ter amilopektin 1-6- α glikozidne vezi).....	19
Slika 13: Maltitol	20
Slika 14: Invertni sladkor	21
Slika 15: Mlečni sladkor.....	21
Slika 16: Sorbitol	22
Slika 17: Manitol	22
Slika 18: Citronska kislina.....	23
Slika 19: Vakuumski reaktor (29)	27
Slika 20: Shematski prikaz poteka izdelave obloženih tablet s tehnologijo slatkornih talin....	30
Slika 21: DSC-termogram maltitola in saharoze	32

Slika 22: TGA-segrevanja osnovnih talin	33
Slika 23: TGA-segrevanja osnovnih talin (izguba mase)	33
Slika 24: DSC-termogram prvega segrevanja osnovnih talin	35
Slika 25: DSC-termogram drugega segrevanja osnovnih talin	36
Slika 26: DSC-termogram drugega segrevanja osnovnih talin	37
Slika 27: Grafa osnovnih komponent sladkornih talin izmerjenih z nanoindenterjem	39

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Vzorci sladkornih talin	15
Preglednica II: Povprečna vrednost Youngovega modula in trdnost osnovnih sestavin sladkornih talin in standardna deviacija določena na nanoindenterju	40
Preglednica III: Youngov modul sladkornih talin dobljen na reometru	42

KAZALO HISTOGRAMOV

Histogram 1: Elastični moduli dobljeni na reometru: a) Osnovna talina BS1, b) Osnovna talina sladkorna S2, c) Izdelek BS1-D1, d) Izdelek vitaminski S-D3, e) Izdelek BS1-D2	41
--	----

POVZETEK

Sladkorne taline so amorfne oblike trdne snovi, ki so primerne za vgradnjo različnih zdravilnih učinkovin, kot so vitamini, minerali, eterična olja, antiseptiki, lokalni anestetiki, idr.

Prednost uporabe izdelkov na osnovi sladkornih talin je, da so prijetnega okusa, vonja in videza. Pomembno mesto imajo tudi v sistemih za dostavo zdravilnih učinkovin in sicer pospešijo bukalno absorpcijo zdravilnih učinkovin in zagotavljajo primerno lokalno zdravljenje ustne sluznice. Pomembno pa je tudi to, da so izdelki na osnovi sladkornih talin primerni za uporabo v pediatriji in geriatriji.

Namen magistrske naloge je fizikalno vrednotenje sladkornih talin saharoze in maltitola. Z nalogo smo želeli podrobnejše proučiti termično in mehansko obnašanje sladkornih talin, ki jih dobimo s kombinacijo sestavin (saharoza/škrobni sirup) in (maltitol/maltitolov sirup).

Za preiskave sladkornih talin smo uporabili termični metodi in analizo mehanskih lastnosti. Kot termični metodi smo uporabili diferenčno dinamično kalorimetrijo in termogravimetrično analizo. Z njima smo ugotavljali obnašanje ob segrevanju: temperature steklastega prehoda in izgubo vode ter pirolizo.

Mehanske lastnosti sladkornih talin smo določali z nanoindenterjem in diametalnim stiskanjem na reometru. S pomočjo omenjenih metod smo ovrednotili elastične in plastične lastnosti proučevanih sladkornih talin ter osnovnih sestavin, saharoze in maltitol.

S termično analizo smo s prisotnostjo steklastega prehoda potrdili amorfno stanje sladkornih talin. Pri mehanskih analizah z nanoindenterjem in reometrom smo ugotovili, da taline z maltitolom izkazujejo večji Youngov modul v primerjavi z vzoreci saharoznih talin. Primerljive rezultate glede elastičnosti smo potrdili pri obeh osnovnih sestavinah sladkornih talin, saharizi in maltitolu.

ABSTRACT

Sugar melts are amorphous solids appropriate for introducing various active ingredients, such as vitamins, minerals, essential oils, antiseptics, local anaesthetics, etc.

The advantage of the products based on sugar melts is that they have a pleasant taste, smell and appearance. They are also important in relation to active ingredients delivery systems since they accelerate buccal absorption of active ingredients and improve the local treatment on oral mucus membrane. In addition, products based on sugar melts are convenient for using in pediatrics and geriatrics.

The aim of this thesis is to evaluate sugar melts of sucrose and maltitol and examine in details both the thermal and mechanical behaviour of sugar melts prepared by melting the combination of maltitol and sucrose with other sugar and non-sugar components.

Thermal behaviour of melts and their components has been performed by differential scanning calorimetry and thermogravimetric analysis. The amorphous structure of melts has been confirmed, however, different components have influence on the glassy state temperature. Thermogravimetric analysis revealed no water in sugar melts.

Alternative analysis have been focused on determining the mechanical properties of sugar melts with a nanoindenter and a diametric compression on rheometer. The used methods allowed to evaluate the elastic and plastic properties of the investigated sugar melts and their basic compounds, i.e. sucrose and maltitol.

Mechanical analyses with the nanoindenter and the rheometer revealed that all samples of sugar melts containing maltitol have a higher Young's modulus compared to sugar melts containing sucrose. The same difference in elasticity has been confirmed of the level of basic components, i.e. maltitol and sucrose.

SEZNAM OKRAJŠAV

AFM	mikroskop na atomsko silo (atomic force microscopy)
DE	dekstrozni ekvivalent (dextrose equivalent)
DSC	diferenčna dinamična kalorimetrija (differential scanning calorimetry)
DSV	dinamična sorpcija vode (dynamic sorption of water)
E	Youngov modul (Young's modulus)
G	Gibbsova prosta energija (Gibbs free energy)
H	trdnost (hardness)
LOD	izguba vode (loss on drying)
IC	izotermna kalorimetrija (isothermal calorimetry)
S	togost (stiffness)
T_g	temperatura steklastega prehoda (glass transition temperature)
TGA	termogravimetrična analiza (thermogravimetric analysis)
XRD	rentgenska praškovna difraktometrija (X-ray diffraction)
W	deformacijsko delo (deformation work)

1. UVOD

1.1. Osnove taline in amorfne oblike

Talina je raztaljena oblika trdne snovi in pri nekaterih snoveh, med njimi so tudi mono in oligosaharidi, je hitro ohlajena talina praviloma v amorfнем (steklastem) stanju. Taline lahko med drugim uporabljamo tudi kot veziva pri izdelavi zrnc, pelet in tablet, so pa uporabne še za oblaganje delcev, agregatov in tablet.

Amorfna oblika trdne snovi je sestavljena iz neurejeno razporejenih molekul, torej ni značilne kristalne rešetke. Kljub vsemu pa v amorfni obliki razporeditev molekul ni povsem naključna, gre za področja, kjer je določena urejenosti sosednjih molekul, ni pa daljnosežne urejenosti molekul. Lahko rečemo, da imajo amorfne oblike trdnih snovi nično kristalnost. Značilnost te amorfne oblike je temperatura steklastega prehoda, kjer snov prehaja iz trdnega stanja v razmehčano stanje. Amorfne snovi so po reoloških lastnostih podobne trdnim, po strukturnih pa tekočim snovem (1,2,3).

1.1.1. Lastnosti amorfnih oblik snovi

Amorfna oblika snovi ima višjo notranjo energijo (entalpijo (H) in entropijo (S)) in Gibbsovo prosto energijo (G). Na osnovi tega lahko zaključimo, da je amorfna oblika snovi termodinamsko manj stabilna. Zaradi nižje termodinamske stabilnosti amorfne snovi kristalizirajo in ta prehod je lahko različno hiter. Nadaljnja lastnost amorfne oblike je tudi višja higroskopnost, hitrejši oksidacijski razpad in večja možnost pojava interakcij z drugimi snovmi, npr. v farmacevtski obliku, spremenjene pa so tudi mehanske lastnosti. Zaradi tega predstavlja stabilizacija amorfne oblike velik izziv in je tehnološko relevantna (1,4).

S postopki amorfizacije želimo predvsem povečati topnost in hitrost raztopljanja v vodi težko topnih učinkovin in tako povečati njihovo biološko uporabnost. Amorfna oblika konkretna spojine je relativno stabilna, če jo hranimo pri temperaturi, ki je vsaj $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ nižja od temperature steklastega prehoda (T_g). V farmaciji je to uporabno le za snovi, ki imajo T_g nad $80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Za stabilizacijo amorfne snovi je uporabnih več pristopov: izdelava trdne disperzije, kjer je amorfna snov stabilizirana s fizikalnimi povezavami, dodatek antiplastifikatorjev (protimehčal) (npr. polimer polivinilpirolidon-PVP, fosfatni ioni, dekstrani), ki zvišajo vrednost temperature steklastega prehoda, idr. (4).

Amorfno stanje je značilno prisotno pri polimerih, nekaterih sladkorjih, peptidih in tudi številnih drugih nizkomolekularnih snoveh. Za pripravo amorfnih oblik zdravilnih učinkovin in pomožnih snovi lahko uporabljamo različne postopke amorfizacije, in sicer: s hitro ohladitvijo taline, zmanjševanjem velikosti delcev, s sušenjem z razprševanjem, liofilizacijo, desolvatациjo solvata oz. dehidracijo hidrata,obarjanjem kislih ali bazičnih učinkovin s spremembou pH-ja in z mešanimi metodami (1,4,6).

Kot analitske postopke vrednotenja amorfnih stanj snovi uporabljamo naslednje metode: rentgensko praškovno difraktometrijo (XRD), diferenčno dinamično kalorimetrijo (DSC), izotermno kalorimetrijo (IC) in dinamično sorpcijo vode (DSV). Med spektroskopskimi tehnikami pa največ uporabljamo infrardečo spektroskopijo s Fourierovo transformacijo (FTIR) in jedrno magnetno resonanco (NMR). Z njimi ugotavljamo stanje amorfnosti in kinetike prehoda v rekristalno obliko.

Za amorfne in delno amorfne snovi je značilen steklast prehod. Steklast prehod je reverzibilna sprememba, pri kateri amorfna faza preide v plastično ali zmehčano stanje pri segrevanju oziroma gre za temperaturni interval, v katerem med segrevanjem snov prehaja iz trdnega steklastega stanja v razmehčano stanje. S poznanjem temperature steklastega prehoda lahko vplivamo na stabilnost amorfnih snovi med shranjevanjem, lahko vplivamo na tehnološki proces in tako zagotovimo končno kakovost sistema, kamor je ta amorfna snov vključena (7).

V raziskavah sladkornih talin so ugotovili, da dodatek plastifikatorjev (npr. propilenglikol, glicerol, voda), vitaminov, eteričnih olj in nekaterih učinkovin znižuje Tg (11,14).

1.2. Uporaba sladkornih talin

Sladkorne taline so začeli v farmacevtski industriji uporabljati iz potrebe po izdelavi zdravil z izboljšanim okusom. Sladkorne taline pa se čedalje bolj uveljavljajo kot nosilni sistemi. V

obliki pastil omogočajo učinkovito in varno dostavo številnih zdravilnih učinkovin. Sladkorne taline lahko vsebujejo vitamine, minerale in eterična olja. Uporabljamо tudi učinkovine z imunomodulatornim delovanjem, antitusike ter lokalne anestetike. Izdelujemо tudi pripravke s prirejenim sproščanjem (12).

Pastile so trdne, enoodmerne farmacevtske oblike za sesanje, ki običajno učinkujejo lokalno v ustni votlini ali v grlu. Pri pastilah so zdravilne učinkovine vgrajene v aromatizirano in oslajeno podlago, ki je izdelana iz sladkorne ali druge primerne taline s tabletiranjem. Izdelujemо mehke pastile in trdne pastile (12).

Začetki oblaganja so bili omejeni predvsem na oblaganje s sladkorjem in segajo v začetek 19. stoletja. Trdne farmacevtske oblike oblagamo, da prikrijemo neprimeren okus in vonj, izboljšamo videz, omogočimo lažje požiranje, izboljšamo stabilnost in modificiramo hitrost razpada in sproščanje zdravilne učinkovine. Oblaganje izvajamo v dražirnih bobnih (13).

Za oblaganje danes manj uporabljamо sladkorje, bolj uporabljamо različne polimere. Uporaba sladkorja kot obloge ima prednosti zaradi dostopnosti in cenosti sladkorja, ni problematična snov s stališča regulative, proces ni tehnološko zahteven in ne zahteva zapletene ter drage opreme. Uporaba sladkorja pa ima tudi svoje slabosti. Težave, ki se pojavljajo pri dražiranju s sladkorjem, se kažejo kot neprimerna trdnost in obrabnost tablet, pokanje obloge, nehomogena obarvanost, marmoriranost površine po loščenju (14). V magistrski nalogi nas je zanimalo, zakaj včasih prihaja do pokanja sladkorne obloge po končanem procesu oblaganja.

1.2. Tehnološki postopki s talinami

Tehnologije s talinami, ki jih uporabljamо v farmacevtski industriji so:

- iztiskanje (ekstruzija) talin,
- aglomeracija s talinami,
- oblaganje s talinami,
- ostale metode.

Prednost tehnologije s talinami je odsotnost organskih topil in s tem skrbi za okolje. S tem so zmanjšani tudi stroški. Odsotnost vode v talinah, ki jih uporabljamo kot osnovo za vgradnjo učinkovin predstavlja prihranek časa in denarja, ker ni potreben postopek sušenja. Izdelavo same taline lahko velikokrat izvedemo na isti opremi, kar predstavlja dodatno prednost (13).

Slabosti tehnologij s talinami so povezane s povisano temperaturo, ki jo uporabljamo pri sami izdelavi taline. Povišana temperatura lahko povzroči kemijsko ali fizikalno nestabilnost zdravilne učinkovine, ki jo uporabljamo pri izdelavi taline, poveča se tudi možnost oksidacije. Vendar je z izbiro primernega tehnološkega postopka in pomožnih snovi možno temperaturo znižati na raven, ki je sprejemljiva za večino zdravilnih učinkovin (13).

Iztiskanje talin

Iztiskanje talin je primerno za izdelavo zrnec, pelet in tablet s prirejenim sproščanjem. S to metodo lahko pripravimo pelete z zadržanim sproščanjem učinkovine. Metoda omogoča izdelavo končne oblike v eni stopnji (14).

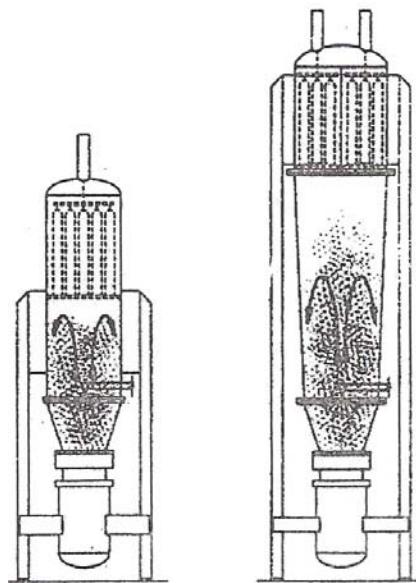
Aglomeracija s talinami

S to tehniko lahko izdelamo pelete in zrnca iz snovi, ki so neobstojne v vodi, ter farmacevtske oblike s podaljšanim sproščanjem ali trdne raztopine. Najpogosteje uporabljamo hitrovreče mešalnike ali pa druge vrste mešalnikov, ki temeljijo npr. na principu nizkih strižnih sil (»low shear granulator«), in opremo na principu zvrtinčenih plasti (»fluid bed«). Pri aglomeraciji v hitrovrečih mešalnikih lahko izdelamo delce različnih velikosti s spremenjanjem količine veziva. Pri tehniki v zvrtinčenih plasteh je primerna komora z razprševanjem od zgoraj (»top spray«), ki zagotavlja stalen in enakomeren dovod taline (13).

Oblaganje s talinami

Učinkovine oblagamo s talinami, kar omogoča zaščito farmacevtskih oblik pred zunanjimi vplivi, kot so svetloba in vlaga, ter tudi pred fiziološkimi vplivi, kot je encimska razgradnja, različni pH-ji... Oblaganje učinkovin lahko zagotavlja tudi kompatibilnost različnih učinkovin v farmacevtski obliki. Z uporabo oblaganja spremnjamo hitrost in profil sproščanja zdravilnih učinkovin (13).

Proces oblaganja lahko izvedemo z opremo, ki temelji na principu zvrtinčenih plasti. Za oblaganje najpogosteje uporabljamo komore z razprševanjem od zgoraj, lahko pa Wursterjevo ali druge komore. Oprema mora zagotavljati zadosten in neprekinjen pretok taline v komoro. Pravilen pretok taline dosežemo z uporabo vročega zraka za razprševanje, ki segreva šobo in z ogrevanjem oz. izolacijo napeljave, po kateri priteka talina iz ogretega rezervoarja. Pomembna je dobra izoliranost celotne glave s šobo, da preprečuje ponovno taljenje obloge, ki je že nanešena na jedra, ki krožijo v sami komori. Oblagamo lahko v navadni komori, vendar je boljša prirejena, ki ima daljšo ekspanzijsko komoro (slika 1). Ekspanzijska komora je stožčaste oblike in omogoča alternativno stresanje filtrov. S tem proces oblaganja poteka brez prekinitve razprševanja taline. Za razprševanje uporabljamo binarno šobo. V to šobo dovajamo talino, ki se razprši zaradi povišanega tlaka (4-6 bara). Male kapljice dobimo z uporabo visokih tlakov, z nizko viskoznostjo taline in majhno hitrostjo razprševanja (13,15).



Slika 1: Primerjava med standardno komoro za granuliranje z zvrtinčenimi plastmi (levo) in komoro za oblaganje s talinami (desno) (13)

2. UPORABLJENE ANALIZNE METODE

2.1. TERMOANALIZA

DIFERENČNA DINAMIČNA KALORIMETRIJA - DSC

DSC je najpogosteje uporabljena termično analizna metoda. Z njo merimo različne lastnosti snovi, kot so tališče, topotna kapaciteta, čistost, izguba vode, topila, določanje kristaliničnosti... Meritev obsega nadzorovano segrevanje in/ali hlajenje vzorca, vzdrževanje konstantne temperature in študije fizikalnih ter kemičnih sprememb. Z DSC merimo razliko v topotnem toku med vzorcem in referenco kot funkcijo temperature in časa. Pri tem sta vzorec in referenca izpostavljeni nadzorovanemu temperaturnemu programu. Kot referenco uporabljammo inertno snov ali pa kar prazen DSC lonček. Prednosti DSC so enostavna priprava vzorca, kratek čas analize, možnost analiziranja trdnih snovi in tekočin v širokem temperaturnem območju. Pomanjkljivosti DSC so, da lahko pride do merjenja napačne fizikalne oz. kemijske interakcije zaradi nespecifičnosti in če pogoji med pripravo vzorca in analizo niso kontrolirani (predvsem vlaga) ter zaradi prekrivanja efektov oz. sprememb. Z DSC pridobimo kvalitativne in kvantitativne informacije kot funkcijo časa in/ali temperature. Pri segrevanju prihaja do endotermnih in eksotermnih sprememb, ki so posledica prej omenjenih fizikalnih in/ali kemijskih sprememb. Atmosfera nad vzorcem je lahko inertni plin, kot je N₂, ali pa neinertni plin, kot je O₂. Prednost N₂ je, da je nereaktivен in zaščiti sam vzorec, da se kemijsko ne spremeni. O₂ uporabljammo, ko opravljamo študije oksidativnih procesov (7).

TERMOGRAVIMERTIJA – TGA

Pri TGA merimo spremembo mase vzorca v odvisnosti od temperature ali časa pri stalni temperaturi. Vzorec je izpostavljen nadzorovanemu temperaturnemu programu. Če opazujemo maso vzorca kot funkcijo časa pri konstantni temperaturi, izvedemo meritve izotermno. S TGA določamo izgubo vode in drugih topil ali plastifikatorja, dekarboksilacije in ostale razpadne procese. Prednost TGA je enostavna priprava vzorca. Iz grafa lahko sklepamo na fizikalne in kemijske spremembe vzorca. TGA analizator je lahko povezan z IR ali masnim

spektrometrom. S takšno povezavo omogočamo identifikacijo plinastih komponent. Atmosfera nad vzorcem, je ponovno lahko inertna (N_2) ali pa neinertna (npr. O_2) (17).

2.2. MEHANSKA ANALIZA

MEHANSKE LASTNOSTI MATERIALA

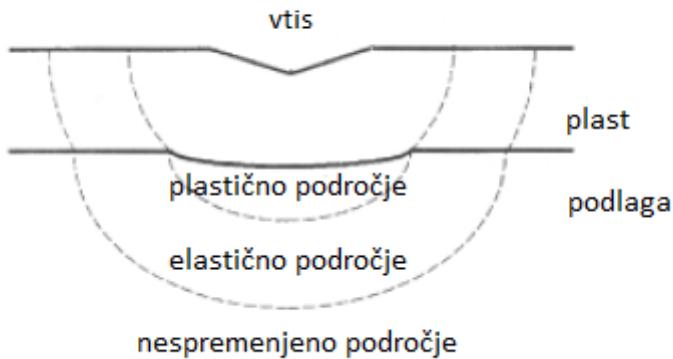
Deformacija je sprememba oblike in prostornine materiala, ko ga mehansko obremenimo. Mehanske lastnosti materialov definirajo obnašanje materiala ob obremenitvi in so opredeljene kot **elastičnost, plastičnost in lomljivost (fragmentacija)**.

Pri začetnem obremenjevanju se materiali deformirajo elastično, in ob obremenitvi narašča deformacija linearno. Material se po razbremenitvi povrne v svojo izhodiščno lego (slika 2). Z mehanskega stališča je elastična deformacija posledica minimalnega raztezka med atomi. Youngov modul predstavlja fizikalni parameter, s katerim lahko kvantitativno ovrednotimo elastično deformacijo. Youngov modul predstavlja sorazmernostni koeficient v Hookovi enačbi, ki podaja raztezek ali skrček prožnega telesa kot funkcijo sile (obremenitve). Z naraščajočo obremenitvijo materiala oziroma po preseganju neke mejne vrednosti (ang. yield stress) pride do irreverzibilne plastične deformacije (slika 3). Osnovni mehanizmi plastične deformacije materialov so drsenje, lezenje in dvojčenje. Plastično deformacijo materialov lahko izrazimo s trdnostjo H (ang. hardness), večja je vrednost trdnosti, nižja je plastičnost in obratno (19).

Trdnost je odpornost materiala proti zunanjim mehanskim vplivom, ki trajno spremenijo njegovo obliko. Z razliko od Youngovega modula, je trdnost (H) lastnost materialov, ki je odvisna od elastičnih ter plastičnih lastnosti materiala, kristalne strukture (defekti) in moči medatomskih vezi (19). Matematično jo lahko predstavimo kot kvocient sile (F) in projekcijske površine nastalega vtisa (A) (enačba I).

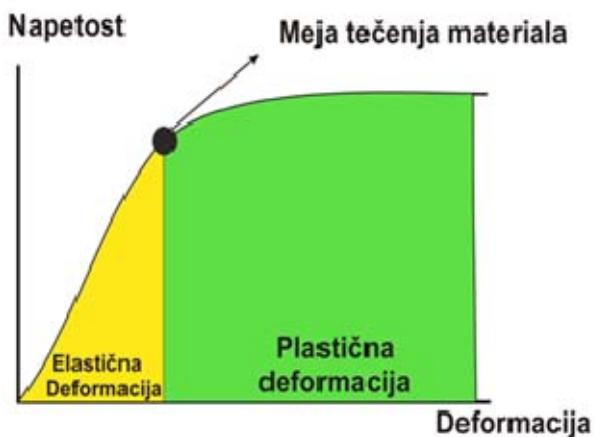
$$H = \frac{F}{A}$$

(enačba I)



Slika 2: Prikaz plastičnega in elastičnega področja podlage, pri merjenju trdote (21)

Ob nadalnjem povečanju obremenitve se lahko pojavi lomljenje. Poznamo različna tipa lomov, in sicer krhel ter žilav lom. Veliko materialov v farmaciji ima tudi viskoelastične lastnosti. Pri teh materialih je deformacija odvisna tudi od časa delovanja mehanske obremenitve in v takih primerih govorimo o časovno odvisni deformaciji.



Slika 3: Graf odvisnosti napetosti od deformacije (27)

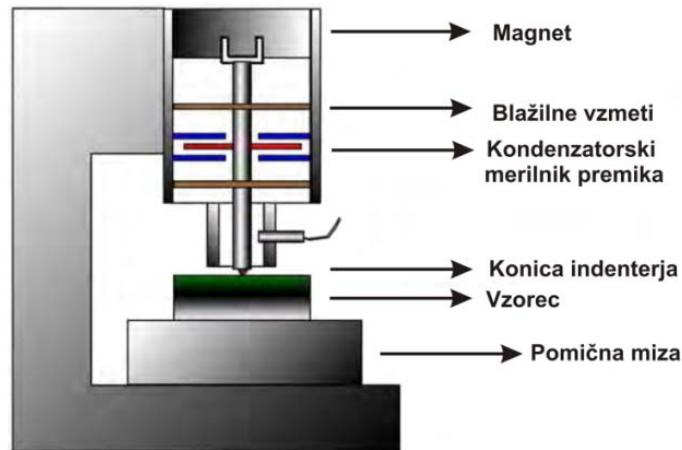
Viskoelastičnost je lastnost materiala, ko kaže tako viskozne kot elastične lastnosti: viskozni del materiala se upira strižnim silam in napetosti linearno s časom, ko na material vpliva sila, elastični del pa se po prenehanju sile vrne v prvotno stanje. Viskoelastične snovi imajo lastnosti obeh vrst materialov (5).

NANOINDENTACIJA

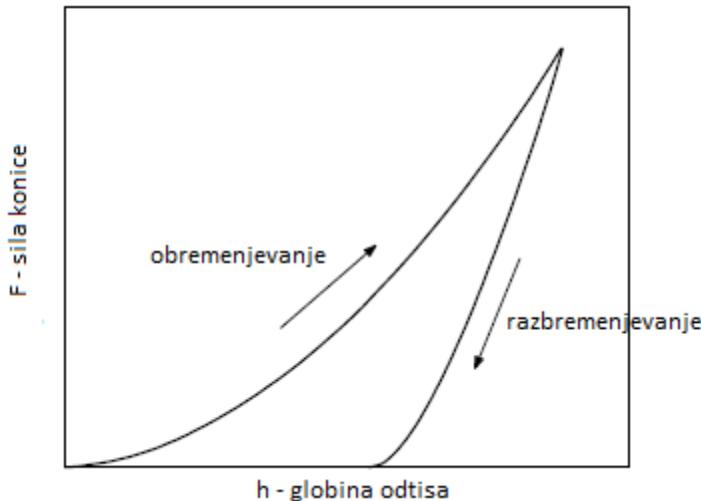
Nanoindenter nam omogoča merjenje mehanskih lastnosti različnih materialov v nanometerskem območju (sliki 4 in 5). Na osnovi kontroliranega vtiskovanja konice lahko določimo različne parametre mehanskih lastnosti, npr. Youngov modul (E) ter vtisno trdnost (H). Nanoindenter sestavlja dva glavna dela in sicer glava za vtiskanje (indentacijo), ki omogoča penetracijo konice v vzorec, hkrati pa omogoča premikanje po površini vzorca za nove vtise (indente) in visokoločljiv senzor, ki zaznava globino vtisa z visoko ločljivostjo. Optični mikroskop kot dodatek omogoča izbiro želenega mesta na površini vzorca. Med obremenjevanjem in razbremenjevanjem se zapisujejo podatki o globini in sili konice. Obtežitveni del krivulje pomeni odpornost vzorca proti prodiranju konice v material in je vezan na elastične in plastične lastnosti preskušanega materiala. Razbremenitveni del krivulje pa da podatke o elastični relaksaciji vtisa. Konica nam omogoča izjemno natančno kontrolo obremenitve in merjenje sile v merilnem območju od 10 nN do 50 N. Konice, ki jih lahko uporabimo, so različne in se razlikujejo po obliki in materialu iz katerega so narejene. Konica mora biti umerjena, ker nepravilnost oblike lahko v nanometerskem območju privede do napak pri izračunu parametrov materiala. Na osnovi podatkov globine odtisa in sile konice iz obremenjevalno razbremenevalne krivulje (slika 6) lahko izračunamo H , E , energijo elastične in plastične deformacije. Prednost nanoindenterja v primerjavi z mikroskopom na atomsko silo (AFM), ki ga tudi lahko uporabljam za določanje nekaterih mehanskih parametrov materiala, je predvsem ta, da nam omogoča vpogled in pristop k merjenju lastnosti materialov ekstremno majhnih volumnov (20,22).



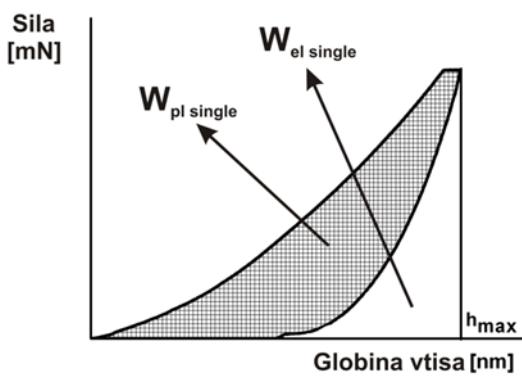
Slika 4: Nanoindenter



Slika 5: Shematski prikaz nanoindenterja (27)

**Slika 6:** Sila konice v odvisnost od globine vtisa (20)

Deformacijsko delo (W), kot vsoto elastičnega ($W_{el\ single}$) in plastičnega ($W_{pl\ single}$) prispevka, dobimo z integriranjem krivulje sile v odvisnosti od globine vtisa. Površina med obremenitveno in razbremenitveno krivuljo pomeni energijo plastične deformacije, nasprotno pa energija elastične relaksacije odgovarja površini pod razbremenitveno krivuljo (slika 7) (25).

**Slika 7:** Deformacijske energije pri deformaciji vzorca z vtiskovanjem, $W_{el\ single}$ - energija elastične deformacije, $W_{pl\ single}$ - energija plastične deformacije. (27)

Način določanja mehanskih lastnosti s pomočjo nanoindenterja

Za določitev trdnosti (H) in elastičnosti (E) potrebujemo togost (S) vzorca in projekcijo površine kontakta med konico in vzorcem (A_p).

Togost (S) predstavlja začetek strmine razbremenitvene krivulje, ki jo lahko predstavimo z enačbo 2. Stik med konico in vzorcem lahko v tem primeru modeliramo kot kontakt med popolnoma togo konico in izotropno snovjo z reduciranim elastičnim modulom E_r .

$$S = \frac{2}{\sqrt{\pi}} E_r \sqrt{A_p} \quad (\text{enačba 2})$$

A_p je projekcija površine stika pri maksimalni sili, ki jo opisuje funkcija oblike konice $A_p = f(h_c)$. Ta za Berkovich indenter znaša $23.96 h_c$.

Globino kontakta konice in vzorca pri maksimalni sili (h_c) dobimo kot:

$$h_c = h_{max} - s_k(h_{max} - h_r)$$

h_{max} = maksimalna globina vtisa

s_k = konstanta, odvisna od geometrije konice

h_r = globina vtisa, ki odgovarja tangenti strmine razbremenitvene krivulje

Elastičnot (E) preiskovanega materiala lahko izračunamo z upoštevanjem Youngovega modula vzorca (E_i) in Poissonovega števila konice (v_i) in vzorca (v) (enačba 3):

$$\frac{1}{E_r} = \frac{1-v_i^2}{E_i} + \frac{1-v^2}{E} \quad (\text{enačba 3})$$

Vtisna trdota (H) predstavlja kvocient F_{max} in A_p in je merilo odpornosti materiala proti plastični deformaciji (enačba 4). Vtisna trdota je lahko opredeljena tudi kot odpornost materiala proti vdoru drugega telesa.

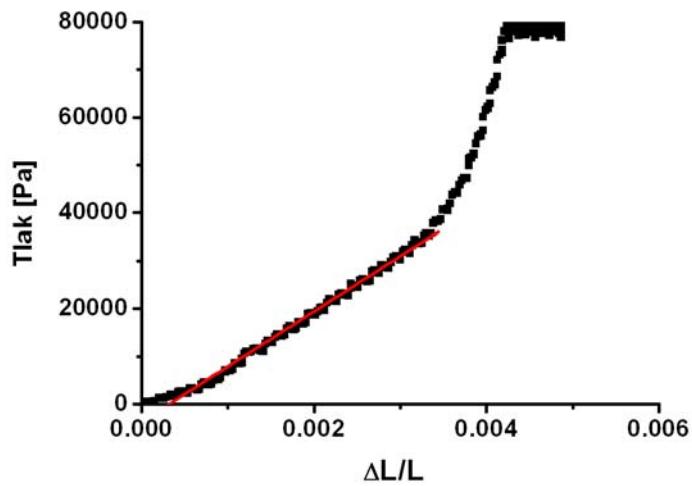
$$H = \frac{F_{max}}{A_p} \quad (\text{enačba 4})$$

REOMETRIJA (Texture Analysis)

Reometer (slika 8) je primarno namenjen kvantitativnemu vrednotenju reoloških parametrov, v našem primeru pa smo ga uporabili za diametralno stiskanje vzorcev in preko tega za določanje mehanskih parametrov (23). V primeru diametralnega stiskanja vzorcev merimo silo, ki jo preračunamo v tlak stiskanja (kvocient sile in površine vzorca), in preko tega dobimo Youngov modul (slika 9) (21).



Slika 8: Reometer (Physica MCR-301) (28)



Slika 9: Odvisnost relativnega skrčka od tlaka stiskanja (rdeči del krivulje predstavlja Hookov zakon)

3. NAMEN DELA

Osnovni namen magistrske naloge je ovrednotiti termične in mehanske lastnosti slatkornih talin. Vrednotili bomo dva sistema. Prvi sistem poleg osnovne strukture saharoza/škrobnih sirup vsebuje še sorbitol in laktozo. Drugi sistem pa poleg osnovne strukture maltitol/maltitolov sirup vsebuje še manitol. V obeh sistemih so lahko prisotni še različni dodatki (učinkovine, barvila, arome idr.).

Kot termični metodi bomo uporabili DSC in TGA in z njima spremljali proces taljenja, temperaturo steklastega prehoda in izgubo vode.

Mehanske lastnosti bomo določali z nanoindentacijo in reometrom. Vrednotili bomo pet vzorcev talin in jim z reometrom določili Youngov modul. S pomočjo nanoindenterja bomo merili Youngov modul (E) in vtisno trdnost (H) osnovnim sestavinam slatkornih talin, saharozi in maltitolu.

Cilji so:

1. Določiti osnovne termične in mehanske lastnosti talin, ki so trdne amorfne snovi in so primerne za vgradnjo različnih zdravilnih učinkovin, ter jih pri proizvajalcu Krka d.d., Obrat Ljutomer uporablajo za izdelavo pastil.
2. Ugotoviti, kako se te lastnosti spremenijo, če so v slatkornih talinah dodatki.
3. Kvantitativno ovrednotiti te spremembe in oceniti njihov potencial na pokanje sladkorne obloge.

4. EKSPERIMENTALNI DEL

4.1. MATERIALI

Pri eksperimentih smo proučevali vzorce petih različnih talin in tudi osnovni sestavini slatkornih talin. Preučevali smo naslednje vzorce različnih talin:

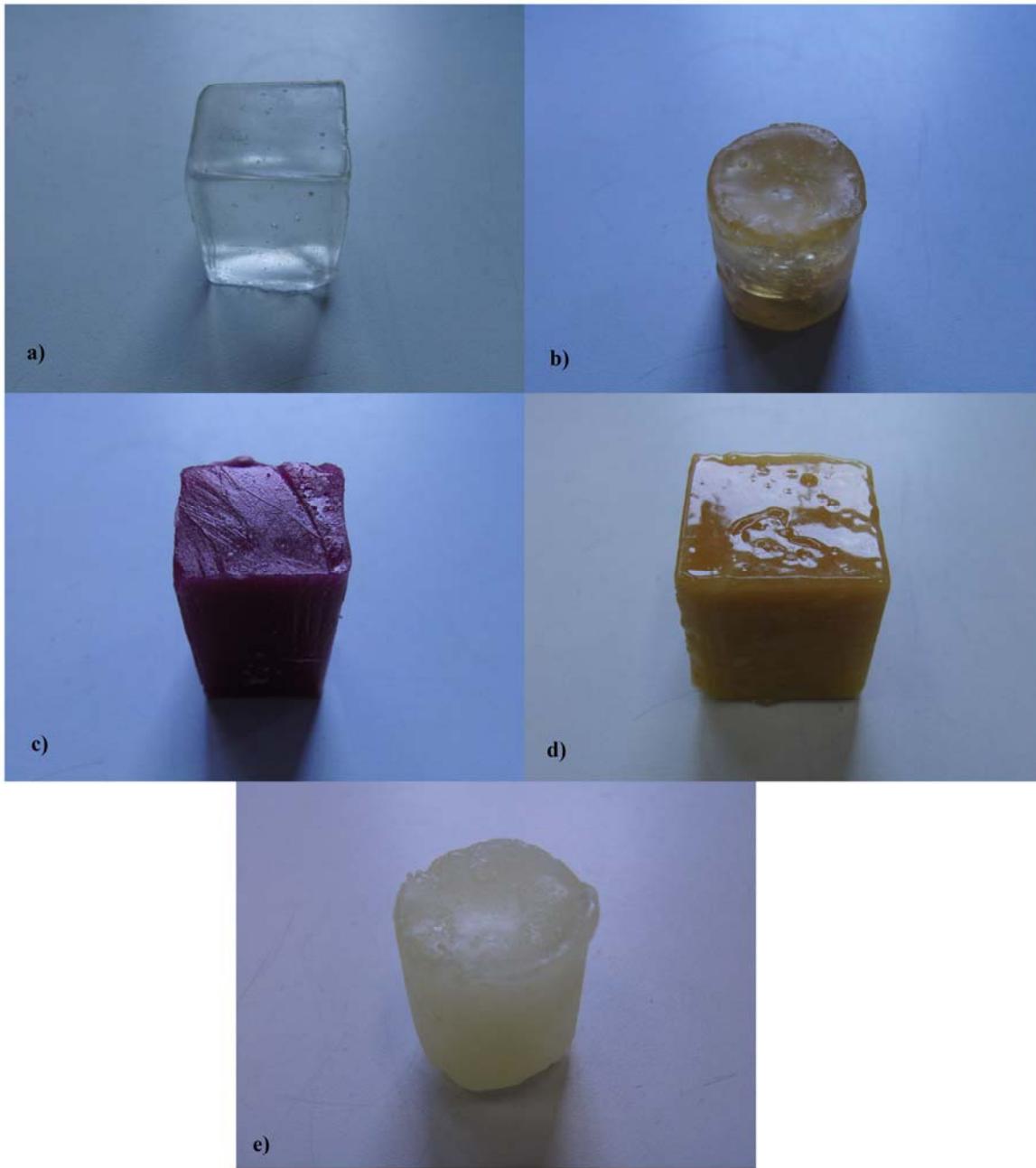
- Osnovna talina BS 1 (sestavljen je iz maltitola, maltitolovega sirupa in manitola)
- Izdelek BS1-D1 (sestavljen iz maltitola, manitola, cetilpiridinijevega klorida monohidrata, levomentola, eteričnega olja limone, arome in barve)
- Izdelek BS1-D2 (sestavljen je iz maltitolovega sirupa, maltitolovega prahu, manitola, cetilpiridinijevega klorida, benzokaina, levomentola in eteričnega olja poprove mete)
- Osnovna talina slatkorna S2 (sestavljen je iz saharoze, škrobnega sirupa, sorbitola in laktoze)
- Izdelek vitaminski S-D3 (sestavljen je iz saharoze, škrobnega sirupa, sorbitola, laktoze, tekočega parafina in različnih vitaminov)

Preglednica I: Vzorci slatkornih talin

Sladkorne taline	Sestava
Osnovna talina BS 1	maltitol, maltitolov sirup in manitol
Izdelek BS1-D1	maltitol, manitol, cetilpiridinijev klorid monohidrat, levomentol, eterično olje limone, arome in barve
Izdelek BS1-D2	maltitolov sirup, maltitolov prah, manitol, cetilpiridinijev klorid, benzokain, levomentol in eterično olje poprove mete
Osnovna talina slatkorna S2	saharosa, škrobeni sirup, sorbitol in laktoza
Izdelek vitaminski S-D3	saharosa, škrobeni sirup, sorbitol, laktoza, tekoči parafin in različni vitaminii

Primerjalno smo z istimi preiskavami analizirali tudi osnovne sestavine slatkornih talin:

- saharoza (Pfeifer & Langen, Nemčija (Ph. Eur.))
- maltitol (ROQUETTE ITALIA s.p.a., Italija (Ph.Eur. + dodatne zahteve)



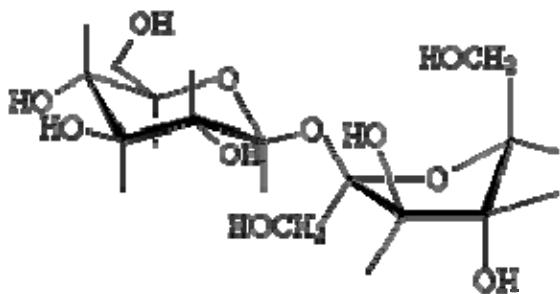
Slika 10: Izgledi različnih vzorcev slatkornih talin: a) Osnovna talina BS 1, b) Osnovna talina slatkorna S2, c) Izdelek BS1-D1, d) Izdelek vitaminski S-D3, e) Izdelek BS1-D2

4.2. SESTAVA TRDNIH SLADKORNIH TALIN

4.2.1. Saharoza (Pfeifer & Langen, Nemčija (Ph. Eur.))

Saharoza je disaharid. Je spojina fruktoze in glukoze (slika 11). Pridobljena je iz sladkornega trsa, ki vsebuje 15-20 % saharoze in iz sladkorne pese, ki vsebuje 10–17 % saharoze. Saharozo uporabljamo kot osnovno surovino v prehrambeni in farmacevtski industriji. Zelo pogosto jo uporabljamo v oralnih farmacevtskih pripravkih (npr. tablete za sesanje). Saharozni sirup, ki vsebuje 50-67 % m/m saharoze, uporabljamo kot vezivo pri mokri granulaciji. Saharoza je uporabna tudi kot suho vezivo (2-20 % m/m) in kot sredstvo za povečanje prostornine/mase ter kot sladiло v žvečljivih tabletah. Tablete, ki vsebujejo veliko količino saharoze, razpadajo slabše. Uporaba saharoze v farmacevtskih pripravkih upada, ker je kariogena.

Saharoza se pojavlja v obliki brezbarvnih kristalov ali v obliki belega kristaliničnega praška. Je brez vonja in ima sladek okus. Je stabilna pri sobni temperaturi in karamelizira pri segrevanju pri temperaturah nad 160 °C. Karamelizacija je proces oz. reakcija oksidacije. Saharoza hidrolizira v tankem črevesju do glukoze in fruktoze, ki se nato absorbirata. Po intravenskem vnosu se sahariza v nespremenjeni obliki izloči z urinom (9).



Slika 11: Saharoza

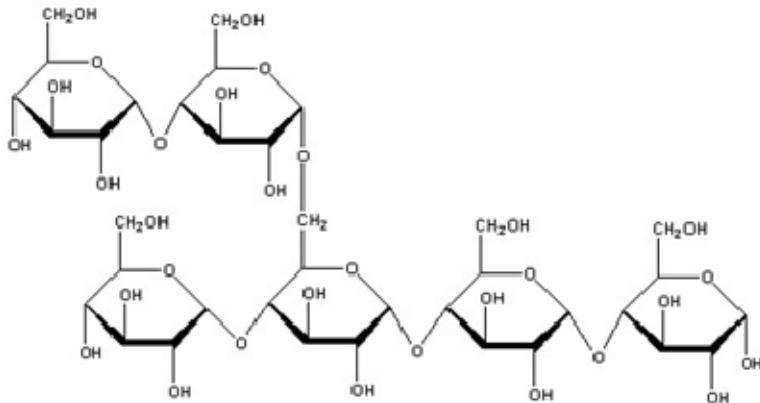
4.2.2. Škrobni sirup (AD Industrija Škroba »Jabuka«, Srbija (Ph. Eur. + dodatne zahteve))

Škrob je polisaharid pri rastlinah. Je polimer, sestavljen iz amilopektina (75 – 85 %) in amiloze (15 – 25 %). Amilopektin je sestavljen iz D-glukopiranote, kjer se poleg $\alpha(1 \rightarrow 4)$ vezi, na vsakih 25-30 monomernih enot pojavi tudi $\alpha(1 \rightarrow 6)$ vez. Na ta način nastaja razvezjana α vijačnica (slika 12). Amiloza je homopolimer glukoze, v katerem se posamezne glukozne enote povezujejo z $\alpha(1 \rightarrow 4)$ vezjo. Nastane nerazvezjana veriga, ki vsebuje 250-1000 glukoznih podenot.

Škrobni sirup je hidrolizni produkt škroba. Vsebuje mešanico glukoze, maltoze in višjih saharidov. Škrobni sirup je brezbarvna, gosta, lepljiva in viskozna tekoča masa. Poznamo različne tipe škrobnega sirupa. Nizko konvertirajoči škrobni sirup (20-38 dekstroznki ekvivalent (DE)) je produkt hidrolize škroba. V manjši meri anomer prehaja iz levega v desni in obratno. Ima nizko vsebnost ekvivalenta glukoze (26-35 %). Deluje kot penilo in stabilizator emulzij v živilski industriji (npr. gazirane pijače, lizike). Visoko konvertirajoči škrobni sirup (DE > 45) je zelo sladkega okusa. Ima višji osmotski tlak v primerjavi s saharozo. Uporablja se v slaščičarski industriji in proizvodnji brezalkoholnih pijač (9).

Stopnja hidrolize škrobnega sirupa se izraža z dekstroznim ekvivalentom (DE), ki predstavlja vsebnost skupnih reducirajočih sladkorjev izraženih kot glukoza, preračunano na suho snov sirupa. Fizikalne lastnosti škrobnega sirupa so odvisne od DE. Višja vrednost DE pomeni višjo higroskopnost, manjšo molekulsko maso, nižjo viskoznost in gostoto pri isti temperaturi (26).

Škrobni sirup ima pomembno vlogo pri tvorbi slatkornega jedra tablet pastil in izdelkih opisanih v tej magistrski nalogi. Njegova lastnost je, da uravnava sladkost in zavira kristalizacijo saharoze (9).

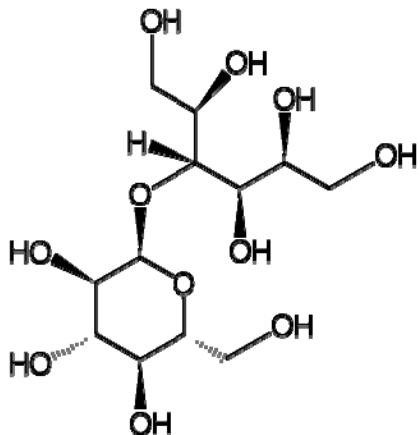


Slika 12: Struktura škroba (amiloza 1-4 α - ter amilopektin 1-6- α glikozidne vezi)

4.2.3. Maltitol (ROQUETTE ITALIA s.p.a., Italija (Ph.Eur. + dodatne zahteve))

Maltitol je disaharid, sestavljen iz glukoze in sorbitola (slika 13). Je bel kristalinični prašek, brez vonja in je sladkega okusa. Škrob se hidrolizira v maltozni sirup. Hidroliza poteka z uporabo encimov amilaz, ki hidrolizirajo (razgrajujejo) škrob preko manjših polimerov, naprej v oligosaharide in le-te dalje do maltoze. S hidrogeniranjem maltoznega sirupa pa potem dobimo maltitol. Dobro je topen v vodi. Ima dobro toplotno in kemično stabilnost. Razgradnja maltitola se začne pri temperaturi nad 200 °C. Maltitol adsorbira zračno vlago šele pri relativni zračni vlagi 89 % in več (pri 20 °C). Tališče maltitola je med 148 °C ter 151 °C. Maltitol je široko uporaben v farmacevtski industriji, predvsem v oralnih farmacevtskih oblikah. Je dober vehikel tudi za različne peroralne farmacevtske oblike, uporabljamo ga lahko tudi pri mokri granulaciji in kot slatkorno oblogo. Uporabljamo ga tudi v živilski industriji. Je netoksičen, nekariogen, ne povzroča alergij in je neiritantni material ter nekarcinogen. Splošno je priznan kot varen. Maltitol se presnavlja po dveh različnih presnovnih poteh: a) z absorpcijo v tankem črevesu in b) fermentacijo v debelem črevesju. Ti dve presnovni poti morata biti upoštevani pri ocenjevanju energijske vrednosti. Hidroliza maltitola v tankem črevesju sprošča sorbitol in glukozo. Glukoza se hitro absorbira. Sorbitolova absorpcija pa je pasivna. Neabsorpirani

sorbitol in nehidrolizirani maltitol fermentira mikroflora v debelem črevesju. Način absorpcije je odvisen od številnih individualnih dejavnikov in je povezan s količino zaužitega maltitola. Prekomerno peroralno zaužitje (> 50 g na dan) lahko povzroči napenjanje in drisko. Maltitol ima nizek glikemični indeks, zato ima prostor v prehrani slatkornih bolnikov (9).



Slika 13: Maltitol

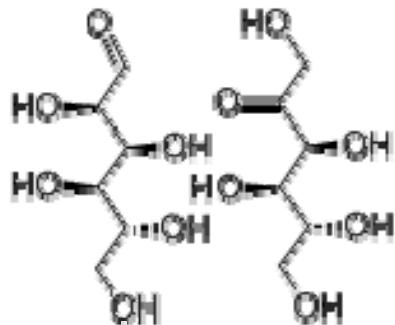
4.2.4. Maltitolov sirup (ROQUETTE ITALIA s.p.a., Italija (Ph.Eur. + dodatne zahteve))

Maltitolov sirup je bistra, brezbarvna, viskozna tekočina brez vonja in je sladkega okusa (75 % sladkosti saharoze). Je vodna raztopina hidrogeniranega, delno hidroliziranega škroba, ki vsebuje zmes D-maltitola (vsaj 50 % mase zmesi), D-sorbitola (do 8 % zmesi), hidrogeniranih oligo-in polisaharidov. Uporabljam ga kot sladilo v peroralnih farmacevtskih oblikah, je suspendirajoče sredstvo v peroralnih suspenzijah ter služi za pripravo pastil (9).

4.2.5. Invertni sladkor

Invertni sladkor je zmes glukoze in fruktoze, ki nastane s hidrolizo saharoze (slika 14) (10,11).

V manjšem obsegu se lahko nahaja v talinah slatkornih izdelkov, odvisno od procesnih parametrov izdelave taline in dodatkov.

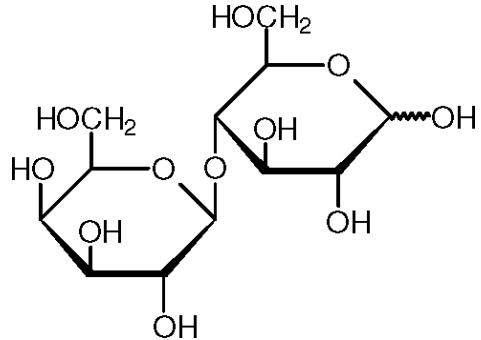


Slika 14: Invertni sladkor

4.2.6. Mlečni sladkor ali laktoza

Laktoza je disaharid, prisoten v mleku. Sestavljen je iz glukoze in galaktoze (slika 15).

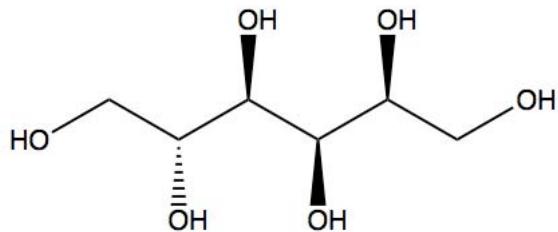
Pridobivajo ga z ekstrakcijo iz mlečne sirotke. Običajno laktozo uporabljamo v kristalni obliki (10,11).



Slika 15: Mlečni sladkor

4.2.7. Sorbitol

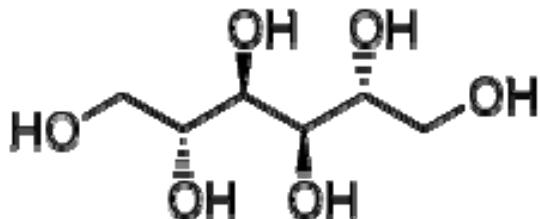
Sorbitol je alkohol, ki se uporablja kot sladilo (slika 16). Industrijsko ga pridobivajo iz koruznega škroba, preko glukoze, ki jo nato reducirajo (10,11).



Slika 16: Sorbitol

4.2.8. Manitol

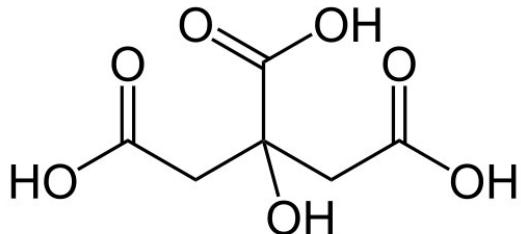
Manitol (slika 17) je sladkor in alkohol, spada med monosaharide, podoben je ksilitolu in sorbitolu. Manitol uporabljamo s sredstvom, ki uravnava kislost (pH). Ima negativno talilno toploto (hladi raztopino, ko se topi), zato ga uporabljamemo z namenom občutka hladitve v izdelkih, kot so bonboni ali žvečilni gumiji. V naravi ga najdemo v gobah in algah. Industrijsko ga pridobivamo s hidrogeniranjem fruktoze (9).



Slika 17: Manitol

4.2.9. Organske kisline

Organske kisline, ki jih uporabljamo pri izdelavi izdelkov, izdelanih na osnovi slatkornih talin, so citronska (slika 17), mlečna, jabolčna in vinska kislina (10,11).



Slika 18: Citronska kislina

4.2.10. Ostali dodatki pri izdelavi pastil iz slatkornih talin

Arome izboljšajo vonj. Uporabljamo arome limete, divje češnje, zelenega jabolka, limone idr. Arome ne smejo biti občutljive na temperaturo, ne preveč hlapne in morajo biti stabilne med shranjevanjem izdelka (10,11).

Barvila so sredstva za barvanje. Uporabljamo regulatorno odobrena in preizkušena barvila (10,11).

4.3. APARATURE

Pri preiskavah talin smo uporabili naslednje aparature:

- Diferenčni dinamični kalorimeter: Mettler Toledo Differential Scanning Calorimeter DSC 1 STAR System, opremljen s programsko opremo SARe Software v 9.30, Švica
- Termogravimetrični analizator: Mettler Toledo TGA/DSC1 STAR System, Švica
- Nanoindenter Agilent G200 Agilent Technologies, ZDA
- Reometer Physica MCR-301, Anton Paar, Gradec, Avstrija

Ostala oprema:

- Analizna tehnicka, Mettler Toledo
- DSC lončki, pokrovčki, Mettler Toledo
- Tehnicka, Mettler Toledo
- Stiskalnica, Mettler Toledo

4.4. METODE DELA

4.4.1. Določanje termičnih lastnosti talin s pomočjo diferenčne dinamične kalorimetrije – DSC

Termično analizo smo izvedli z Mettler Toledo z DSC 1, opremljen s programsko opremo SARe Software v 9.30.

Priprava vzorcev

5-6 mg vzorca smo natehtali v DSC lonček, pokrili s pokrovčkom in ga segrevali od 10 do 150 °C. Kot referenco smo uporabili prazen DSC lonček. Preden vzorec damo v pečico, lonček preluknjamo, da ne pride do nadtlaka. Hitrost segrevanja je bila 10 K/min. Meritve smo izvedli v dušikovi atmosferi s pretokom dušika 50 ml/min. Kalorimeter je bil kalibriran z

indijem. Pomembno je, da DSC-lončke prijemljemo s pinceto. Tako ne vnesemo kakšne spremembe pri delu.

4.4.2. TGA analiza

Uporabili smo Mettler Toledo TGA/DSC1 STAR System.

Priprava vzorcev

5-6 mg vzorca smo natehtali v TG lonček in ga segrevali od 30 do 500 °C. Kot referenco smo uporabili prazen lonček. Hitrost segrevanja je bila 40 K/min. Meritve smo izvedli v dušikovi atmosferi s pretokom dušika 50 ml/min.

4.4.3. Določanje mehanskih lastnosti talin s pomočjo nanoindenterja

Mehansko analizo osnovnih sestavin slatkornih talin na nivoju posameznega delca saharoze in maltitola smo izvedli z nanoindenterjem Agilent G200. Mehanske lastnosti, kot sta Youngov modul (E) in vtisna trdnost (H), smo določili v odvisnosti od globine vtiskovanja. Maksimalna globina vtisa je bila 1500 nm. Na vsakem vzorcu smo izvedli 20 zaporednih meritev na različnih delih površine vzorca.

Priprava vzorcev

Posamezen delec saharoze ali maltitola smo pritrtili na kovinski nosilec z epoksi smolo (UHU, sofortfest, Badel, Nemčija).

4.4.4. Določanje mehanskih lastnosti trdnih talin z reometrom

Diametralno stiskanje geometrijsko pravilnih kosov slatkornih talin (slika 10) smo izvedli na reometru Physica MCR-301 s pomočjo sistema plošča – plošča. Stiskanje vzorcev smo izvedli z zgornjo ploščo in ga spremljali do 50 N, pri čemer smo kot rezultat dobili krivulje odvisnosti sile od pomika plošče. Pomik plošče smo potem uporabili za izračun relativnega skrčka. Youngov modul smo določili kot naklon krivulje relativnega skrčka od tlaka stiskanja.

Hookov zakon podaja raztezek ali skrček prožnega telesa ($\frac{\Delta l}{l}$) pri deformaciji (raztezanje, stiskanje) z dano obremenitvijo ($\frac{F}{A}$):

$$\frac{\Delta l}{l} = E \frac{F}{A}$$

(enačba 6)

kjer sorazmernostni koeficient predstavlja Youngov modul (E).

Priprava vzorcev za merjenje mehanskih lastnosti slatkornih talin

Vsi merjeni vzorci so bili pripravljeni v proizvodnem obratu Krka d.d., Obrat Ljutomer. Sladkorno talino so vlili v izdelane (sestavljive) kalupe iz nerjavnega jekla in ohlajali dve uri pri sobni temperaturi ($20-25\text{ }^{\circ}\text{C}$) ter relativni vlagi do 40 %. Nato so kalupe razstavili in vzorce shranili v neprodušno zaprte vsebnike (slika 10).

4.5. PRIPRAVA OBLOŽENIH TRDNIH FARMACEVTSKIH OBLIK S TEHNOLOGIJO SLADKORNIH TALIN

Pri proizvodnji tehnologij slatkornih talin uporabljamo vakuumske reaktorje (slika 19) in v njih pripravljam osnovno in sladkorno talino. Osnovno talino uporabljamo za pripravo tritutarov in za ohlajanje sladkorne mase. Kadar imamo učinkovine v majhnih količinah oz. se slabo vmešajo v talino (npr. vitamini) jih pomešamo z določeno sestavino (npr. laktozo) in potem dodamo k osnovni talini. To imenujemo tritura. S tem dosegamo hitrejšo in boljšo homogenizacijo učinkovine.

Osnovno talino pripravimo iz sladkorja, sorbitola, škrobnega sirupa, laktoze, prečiščene vode, protipenila (v primeru drugih izdelkov pa iz maltitolja, maltitolovega sirupa in manitola). Sladkorna talina ima iste osnovne sestavine kot osnovna talina, z dodanimi zdravilnimi učinkovinami in različnimi dodatki (površinsko aktivne snovi, arome, barvila idr.).



Slika 19: Vakuumski reaktor (29)

4.5.1. Priprava osnovne taline

Osnovno talino (Osnovna talina sladkorna S2) pripravimo iz sladkorja (saharoze), škrobnega sirupa, sorbitola, laktoze, prečiščene vode in protipenila. Iz vseh naštetih sestavin pripravimo osnovno talino tako, da vse sestavine segrevamo in homogeniziramo v omenjenem vakuumskem reaktorju. Nastalo talino določen čas vakuumiramo, dokler ne dosežemo zahtevane vrednosti podtlaka. Po tem z razbremenitvenim ventilom tlak izenačimo z zunanjim tlakom. Vakuumiramo zato, da odstranimo vodo. Pomembna je nizka vsebnost vode (praviloma pod 1 %). Osnovno talino uporabljamo za ohlajanje v postopku izdelave sladkorne taline z učinkovinami (11).

4.5.2. Priprava sladkorne taline

Sladkorno talino (Izdelek vitaminski S-D3) pripravimo podobno kot osnovno talino. Sladkor (saharozo), škrobni sirup, sorbitol, laktozo, prečiščeno vodo in protipenilo segrevamo in homogeniziramo v vakuumskem reaktorju. Sledi postopno dodajanje prej pripravljene osnovne taline (dodajamo mleto talino) z vključitvijo zdravilne učinkovine, kislin, eteričnih olj, arom ter barv. To izvedemo po vakuumiranju. Mleto osnovno talino uporabimo kot sredstvo za

znižanje temperature taline pred dodajanjem hlapnih in topotno občutljivih dodatkov ter za pripravo trituratov z učinkovinami, ki se sicer težje vmešajo v osnovno talino (11).

4.5.3. Priprava Osnovne taline BS1

Osnovno talino BS1 smo pripravili iz maltitola, maltitolovega sirupa in manitola. Iz vseh naštetih sestavin smo pripravili Osnovno talino BS1 tako, da smo vse sestavine segrevali in homogenizirali v vakuumskem reaktorju. Nastalo talino smo določen čas vakuumirali, dokler nismo dosegli zahtevane vrednosti podtlaka.

4.5.4. Priprava talin BS1-D1 in BS1-D2

Talini (Izdelka BS1-D1 in BS1-D2) pripravimo podobno kot Osnovno talino BS1. Maltitol, maltitolov sirup in manitol segrevamo in homogeniziramo v vakuumskem reaktorju. Sledi postopno dodajanje prej pripravljene osnovne taline (dodajamo mleto talino BS1) z vključitvijo zdravilne učinkovine, kislin, eteričnih olj, arom ter barv. To izvedemo po vakuumiranju. Mleto osnovno talino uporabimo kot sredstvo za znižanje temperature taline pred dodajanjem hlapnih in topotno občutljivih dodatkov ter za pripravo trituratov z učinkovinami, ki se sicer težje vmešajo v osnovno talino.

4.5.5. Hlajenje, drobljenje in mletje taline

Talino izlijemo na pladnje, sledi hlajenje v klimatiziranih hladnih komorah na sobno temperaturo. Hlajenje traja 2 do 3 ure. Po ohladitvi nastanejo trdne plošče, ki jih zmeljemo v granule v drobilnikih in mlinih do ustrezne porazdelitve velikosti delcev (cca. 4 mm). Tako izdelane granule iz sladkorne taline potem uporabimo pri izdelavi zmesi za tabletiranje (11).

V fazi hlajenja taline smo pripravili tudi naše vzorce taline, tako da so še tekočo talino vlili v izdelane nerjavne kalupe in jo ohladili v hladilni komori ter shranili v neprodušno zaprte vsebnike.

4.5.6. Priprava granulata in zmesi za tabletiranje

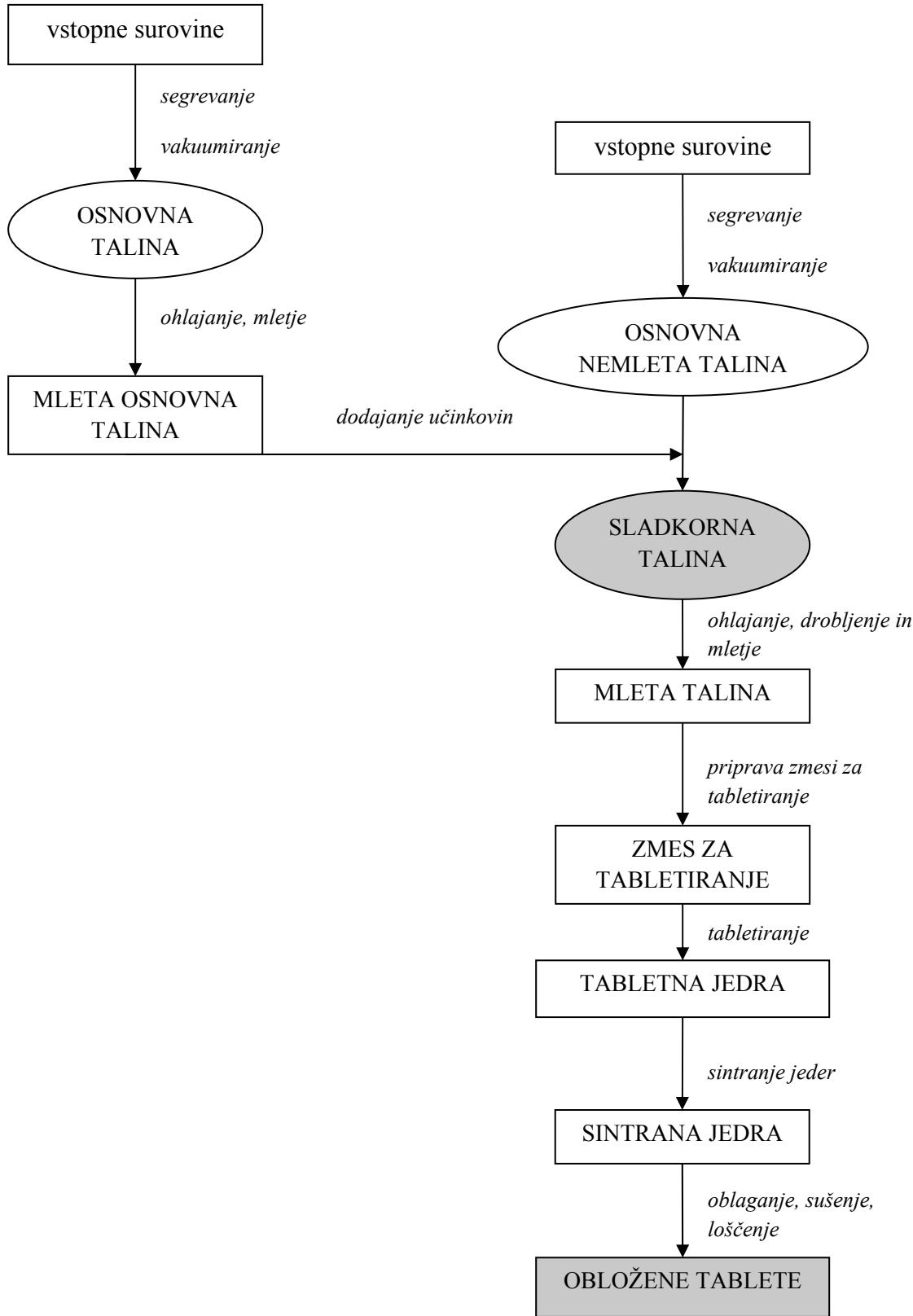
Zdrobljeni in zmleti talini dodamo granulirno tekočino (sestavljena je iz glicerola in koncentriranega etanola), ki poveže manjše delce taline v večje aggregate. Dodamo še drsila in maziva (14).

4.5.7. Tabletiranje in sintranje

Zgoraj pripravljeno zmes za tabletiranje stisnemo v tablete. Sledi sintranje ali zgoščevanje, ki je spontan proces, gledano s termodinamskega vidika. Sintranje izvedemo pri temperaturi vhodnega zraka 55 °C do 65 °C približno 30 minut. (Sistem teži k stanju z minimalno prosto energijo. Skupna Gibbsova energija sistema se zmanjšuje zaradi povezovanja delcev in zmanjševanja prostega volumna.) Sintranje je definirano kot povezovanje bližnjih površin delcev v določeni masi praška z dovajanjem toplotne energije. Gre za segrevanje praškov pod temperaturo tališča v kontroliranih pogojih. S sintranjem fizikalno stabiliziramo jedra. Sintranje poteka v namenskih bobnih za oblaganje (Pellegrini) z dodanimi infrardečimi grelniki za bolj enakomerno porazdelitev toplote. Po končanem sintranju tabletna jedra dobijo strukturo, ki je podobna strukturi taline po ohlajanju.

4.5.8. Oblaganje, glajenje, sušenje in loščenje

Sintranju sledi postopek oblaganja, ki ga izvajamo v klasičnih dražirnih bobnih za oblaganje. Izmenično nanašamo sladkorno suspenzijo in mleti sladkor. V tej stopnji proti koncu prehajamo v fazo glajenja. Glajenje poteka z nanašanjem barvne suspenzije. Po oblaganju se obložene tablete sušijo v sušilni komori. Pri tem se obloga strdi in stabilizira. Na koncu obložene tablete loščimo v posebnih bobnih, ki predstavljajo dodatno zaščito in izboljšajo videz obloženih tablet (10,14).



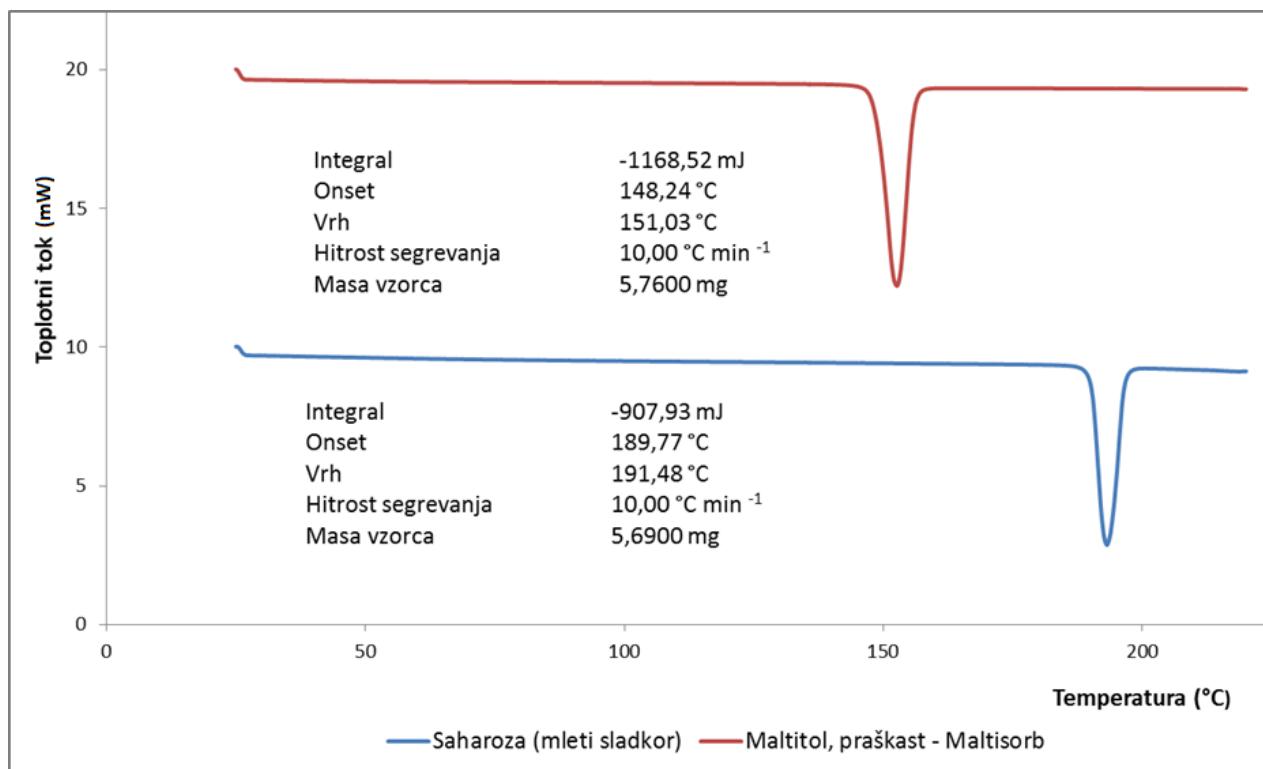
Slika 20: Shematski prikaz poteka izdelave obloženih tablet s tehnologijo sladkornih talin

Sestava obeh osnovnih talin (osnovne taline in osnovne nemlete taline) je enaka, vendar pa prvo osnovno talino, ki jo izdelamo prej ohladimo in zmeljemo. Mleto osnovno talino dodamo v segreto in vakumirano osnovno nemleto talino v fazi izdelave granulata izdelka z namenom, da ohladimo slatkorno talino pred dodajanjem temperaturno občutljivih in hlapnih sestavin (slika 20).

5. REZULTATI IN RAZPRAVA

5.1. Rezultati termične analize

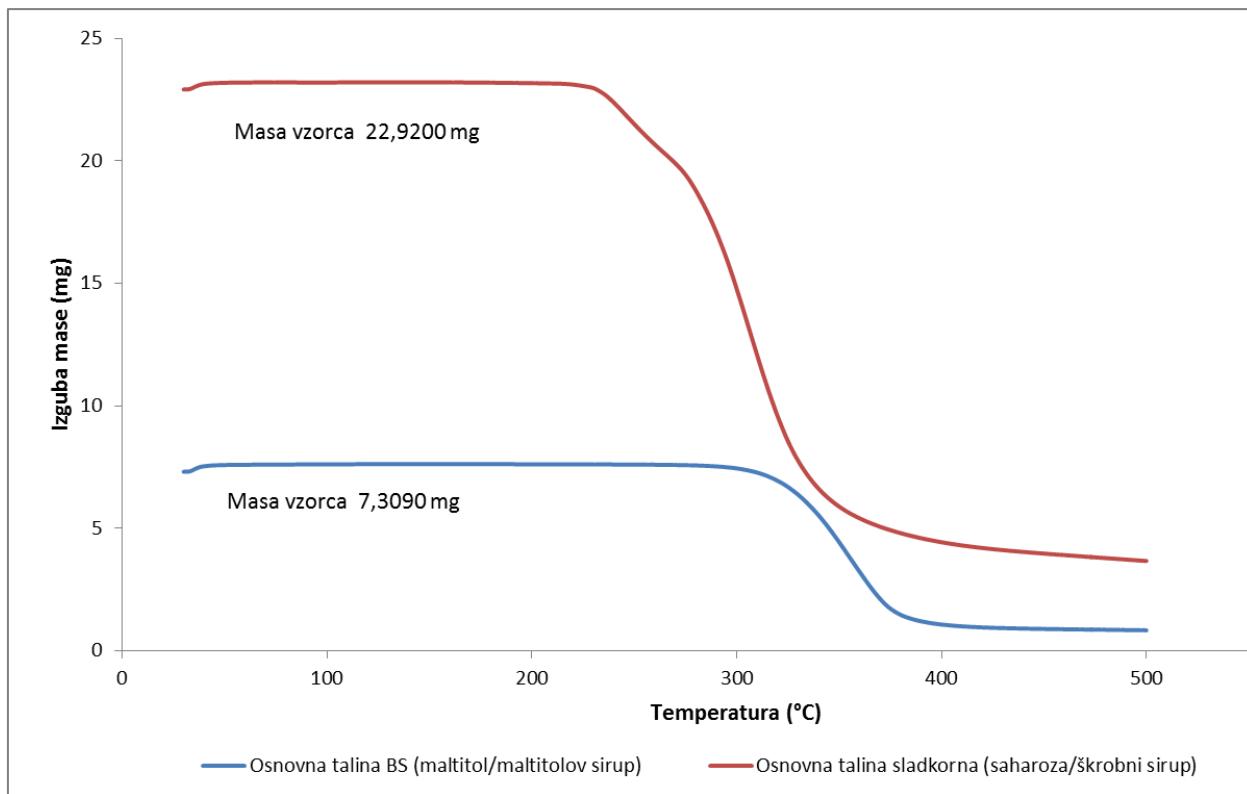
Na termogramu (slika 21) opazimo izrazita vrhova, ki prikazujeta taljenje sladkorjev. Vzorec **Maltitol** se stali pri 151,03 °C. Vzorec **Saharoza** se stali pri 191,48 °C. Začetna temperaturna sprememba vzorca **Maltitol** je pri 148,24 °C, za vzorec **Saharoza** pa 189,77 °C. Pri določanju temperature taljenja sladkorjev niti pri maltitolu niti pri saharazi nismo opazili kakšnih posebnosti. Pri vzorcih osnovnih komponent se temperatura taljenja razlikuje za 40 °C.



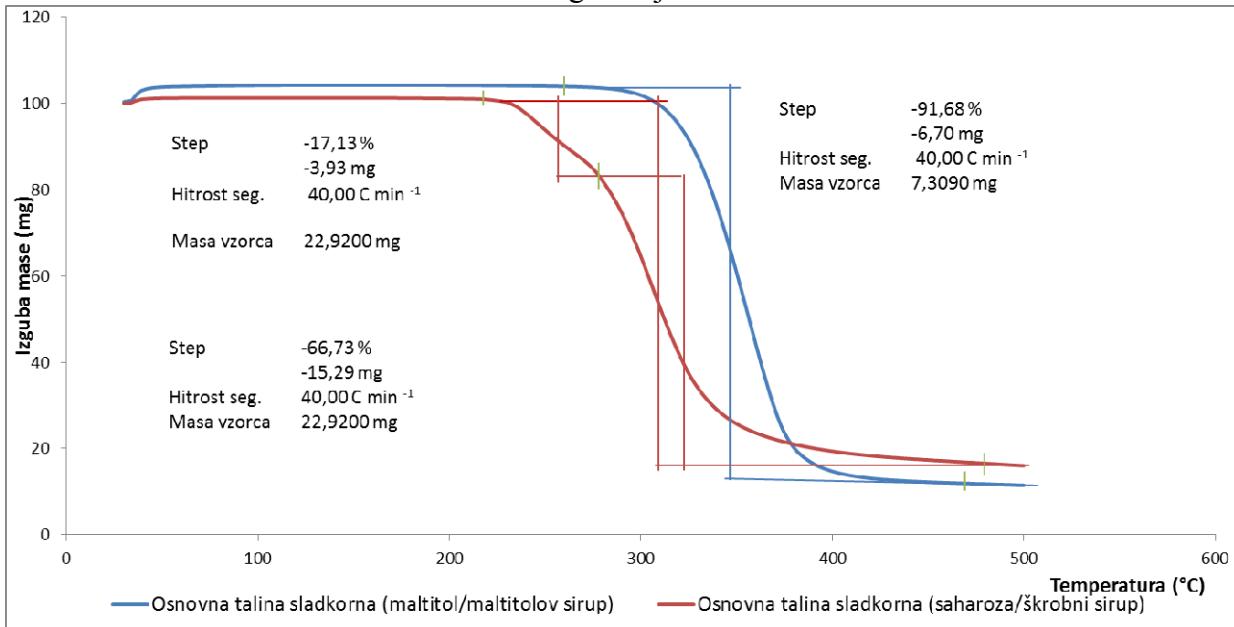
Slika 21: DSC-termogram maltitola in saharoze

Slike 22 in 23 prikazujeta izgubo mase vzorcev **Osnovna talina slatkorna** (saharoza/škrobni sirup) in **Osnovna talina BS** (maltitol/maltitolov sirup) v odvisnosti od temperature. Masa se ne spreminja do 150 °C, kar pomeni, da ni prisotne vode, niti kakšnih drugih topil. Iz grafa vidimo, da je maltitol bolj stabilen. Sprememba oz. izguba mase pri vzorcu **Osnovna talina slatkorna** (saharoza/škrobni sirup) je 6,70 mg, pri vzorcu **Osnovna talina BS**

(maltitol/maltitolov sirup) pa 3,93 mg. Do sprememb oz. izgube mase prihaja zaradi termičnega razpada vzorca.



Slika 22: TGA-segrevanja osnovnih talin

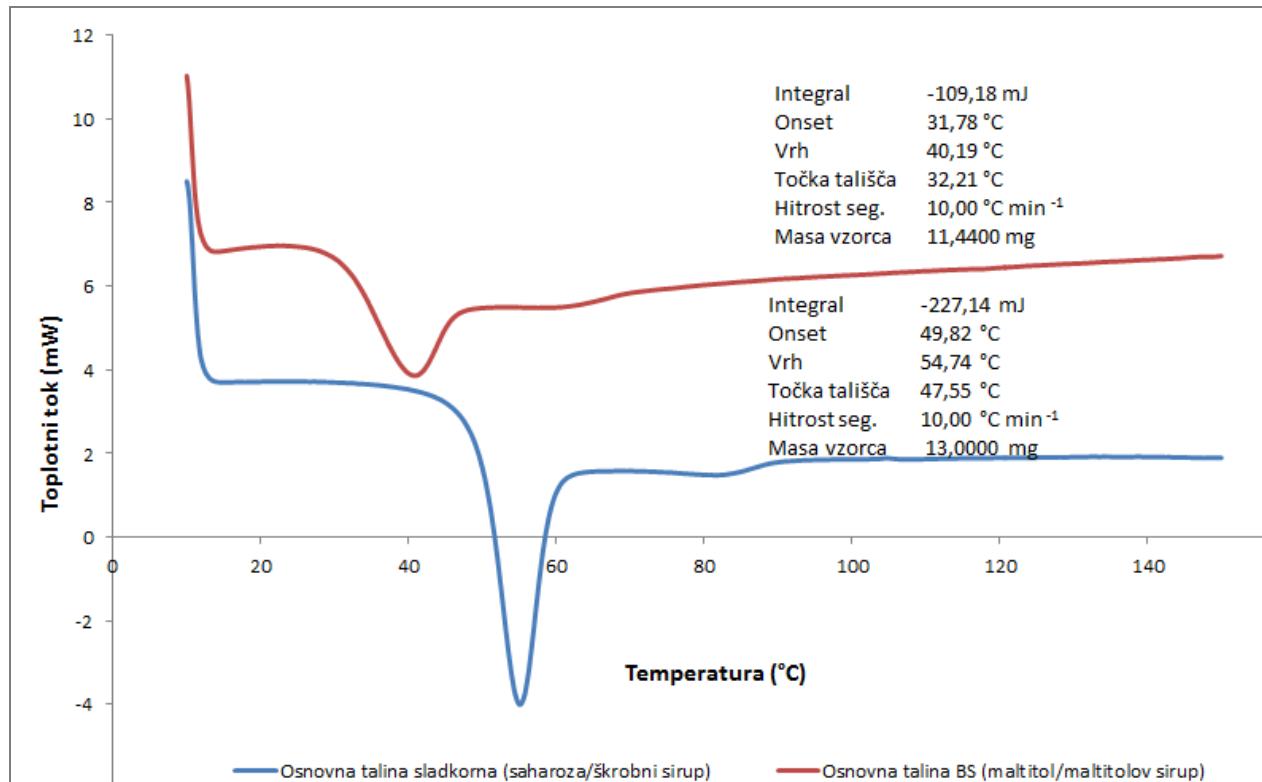


Slika 23: TGA-segrevanja osnovnih talin (izguba mase)

Na DSC-termogramih vzorca **Osnovna talina BS** (maltitol/maltitolov sirup) opazimo na temperaturnem intervalu od 25 do 50 °C endotermni vrh. Pri vzorcu **Osnovna talina sladkorna** (saharoza/škrobni sirup) nastopi relaksacijska entalpija v temperaturnem intervalu od 30 do 60 °C. Temperatura začetka relaksacijske entalpije se pri obeh talinah razlikujeta. Gre za relaksacijsko entalpijo amorfne snovi (slika 24).

Relaksacija je pojav, ki odraža napetost v strukturi steklastega stanja. Odvisna je od temperature in časa shranjevanja steklastega stanja pod T_g ter hitrosti ohlajanja v procesu nastanka steklastega stanja. Relaksacijo odstranimo s segrevanjem vzorca do temperatur nad T_g . Takoj po ohladitvi tega vzorca dobimo s ponovnim segrevanjem pod istimi pogoji DSC krivuljo brez relaksacijske endotermne spremembe. Temperatura steklastega prehoda (T_g) se ravno tako razlikuje pri obeh vzorcih. Pri vzorcu **Osnovna talina sladkorna** (saharoza/škrobni sirup) je T_g 84,0 °C. Pri vzorcu **Osnovna talina BS** (maltitol/maltitolov sirup) pa je T_g 64,0 °C (slika 24). Vrednosti so lahko odvisne od starosti samega vzorca, pogojev shranjevanja, vsebnosti vode, nastanka vzorca, časa, idr. Da bi odstranili vpliv teh parametrov, smo spremenili DSC-temperaturni program. Slednjemu smo dodali segment hitrega ohlajanja, ki mu sledi ponovno segrevanje (sliki 25, 26).

Toplotni tok med vzorcem in referenco merimo kot funkcijo linearne spremembe temperature in temu pravimo temperaturni program. Temperaturni program je torej programirano segrevanje oz. ohlajanje vzorca. Odziv vzorca je odvisen od parametrov, ki program definirajo.



Slika 24: DSC- termogram prvega segrevanja osnovnih talin

Slike 25 in 26 prikazujeta termograma istih, prej segrevanih vzorcev talin, ki smo jih segrevali, ohladili in ponovno segrevali. Pri prvem segrevanju smo pri obeh vzorcih opazili relaksacijsko entalpijo, ki pa je nismo zaznali pri drugem segrevanju istega vzorca.

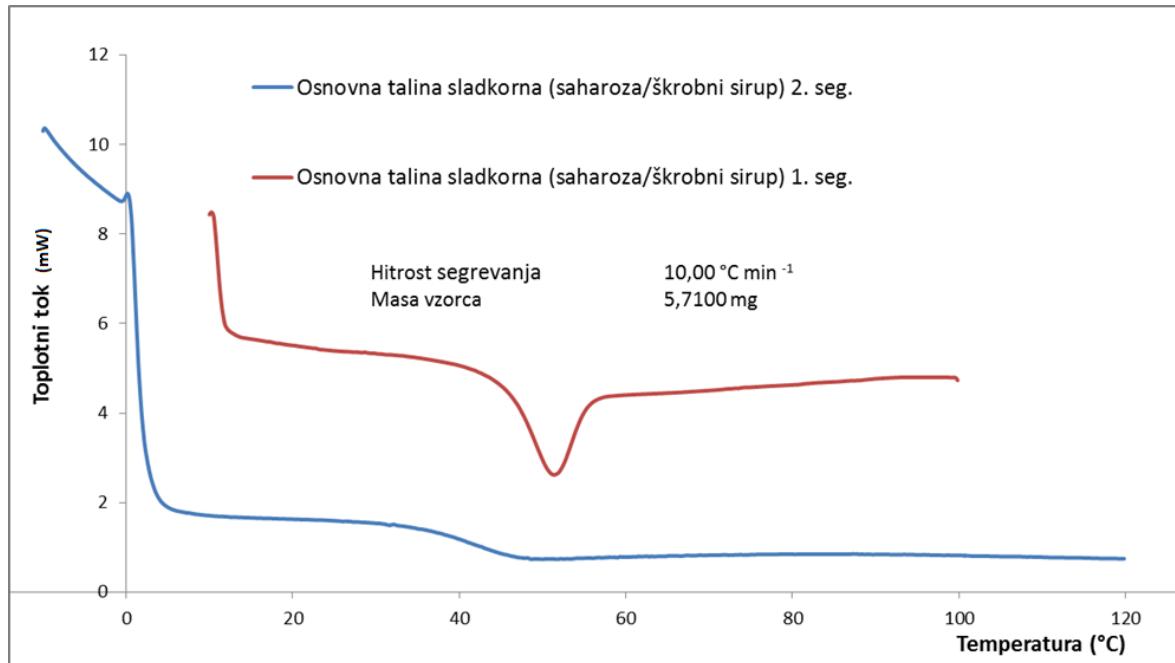
Pri termični analizi z DSC smo s prisotnostjo steklastega prehoda Tg dokazali amorfno stanje. V nobenem izmed preiskovanih vzorcev talin nismo zaznali kristalne faze.

Med vzorcema **Osnovna talina BS** in **Osnovna talina slatkorna** smo pri prvem segrevanju opazili razlike v temperaturi začetka taljenja, ravno tako tudi pri temperaturi steklastega prehoda. Relaksacijska entalpija nastopi pri obeh vzorcih talin v približno podobnem temperaturnem intervalu (30 °C do 60 °C), kar je vidno pri prvem segrevanju talin na slikah 25 in 26.

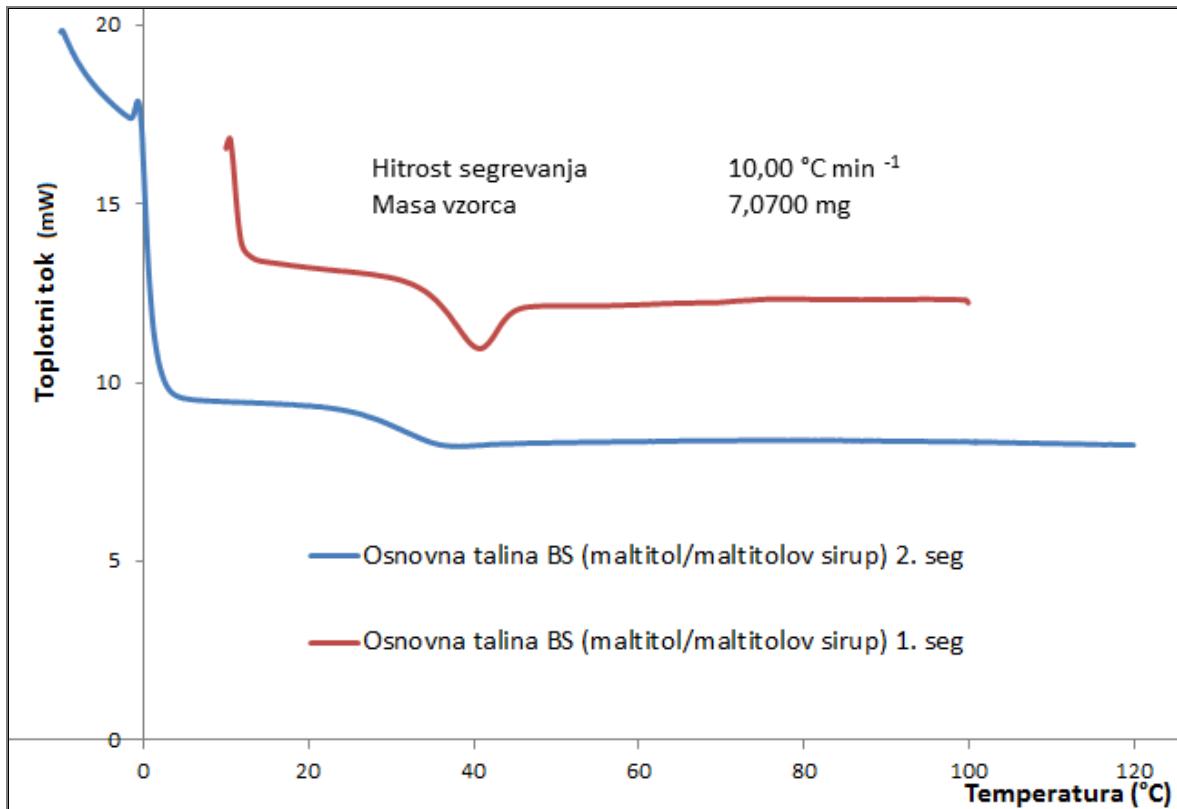
Na krivulji drugega segrevanja je jasno opazna sprememba krivulje, značilna za steklast prehod. Relaksacije na krivulji drugega segrevanja ni, zato lahko določimo Tg. Tg za vzorec **Osnovna talina slatkorna** je 41,37 °C, za vzorec **Osnovna talina BS** pa 33,57 °C.

Tg je odvisen od sestave. Nižji Tg pomeni, da so že pri nižji temperaturi prisotne migracije molekul znotraj strukture. To pomeni, da je vzorec **Osnovna talina sladkorna** (sistem saharoza/škrobni sirup) pri teh temperaturah bolj rigiden kot vzorec **Osnovna talina BS** (sistem maltitol/maltitol sirup).

Iz tega lahko sklepamo, da je tudi pri sobni temperaturi v maltitolnih talinah obstaja večja nevarnost za spremembe dimenzij taline oz. tabletnegra jedra.



Slika 25: DSC-termogram drugega segrevanja osnovnih talin



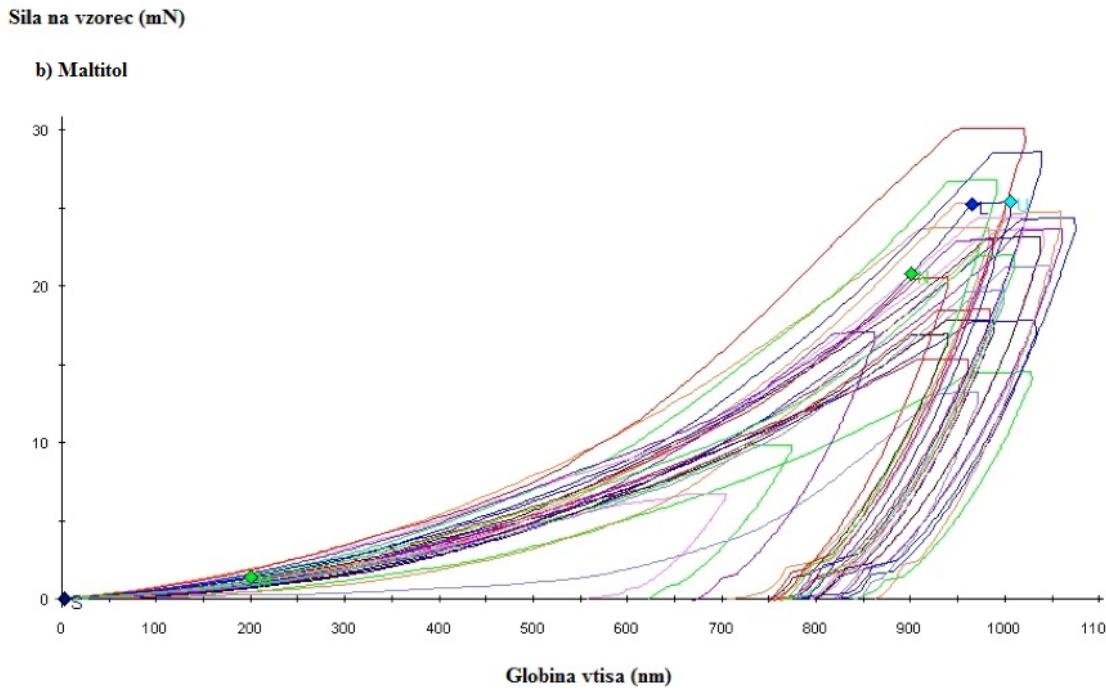
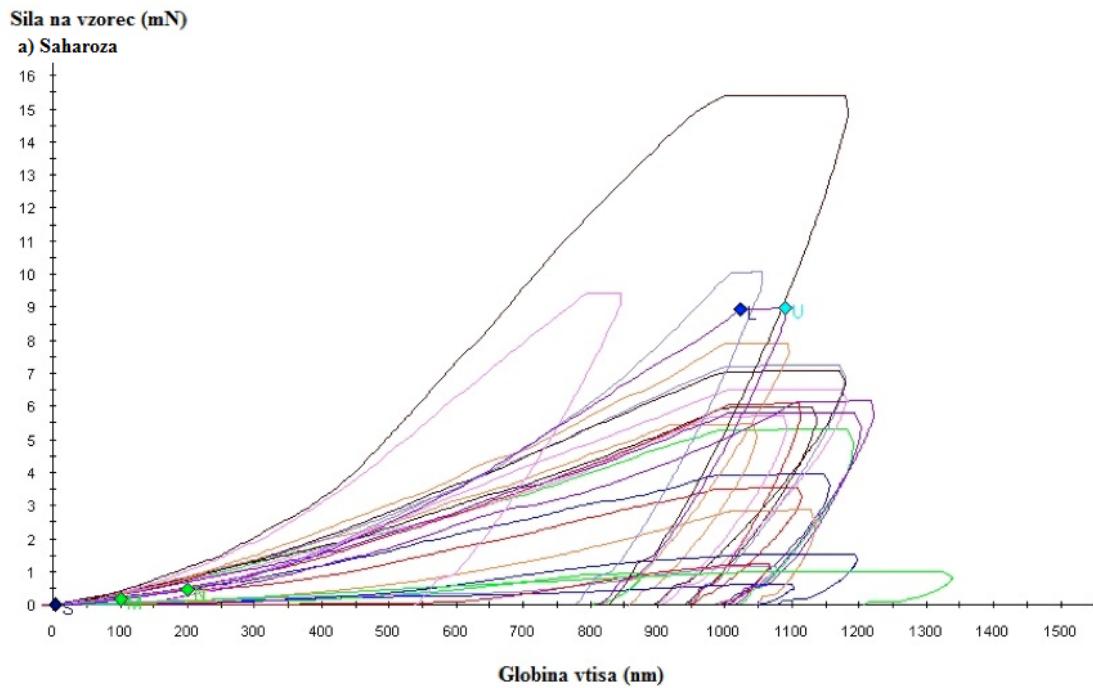
Slika 26: DSC-termogram drugega segrevanja osnovnih talin

5.2. Rezultati mehanske analize

V dosedanjih raziskavah sladkornih talin so poskušali ugotoviti vzrok pokanja obloge, ki so ga povezovali z neprimernimi mehanskimi lastnostmi obloge (premajhna elastičnost) in spremembah volumna tabletnega jedra, ki jih še dodatno povečajo dodatki (vitamini, eterična olja) (11). Kot metodo preiskav so že uporabljali termične analize. Naš prvotni namen je bil v raziskave vključiti določanje mehanskih lastnosti sladkornih talin z nanoindenterjem in z AFM. Zaradi specifičnega obnašanja talin ob obremenitvi (vzorec se namreč stali), teh analiz nismo mogli izvesti. Pod visokimi obremenitvami s katerimi deluje konica nanoindenterja oziroma AFM, se je površina vzorca obnašala kot tekočina oziroma se je stalila. Prisotnost tekočine na površini pa je onemogočila merjenje mehanskih lastnosti preizkušanih vzorcev, saj konica ne zazna stične točke. Pri mehanski obremenitvi (visoki tlaki) se je vzorec torej stalil, površine vzorca nismo mogli določiti in meritve niso bile ponovljive. Izjema sta bili osnovni sestavini: saharoza in maltitol. Zaradi naštetih težav smo izbrali za analizo reometer.

Rezultati mehanske analize saharoze in maltitola z nanoindenterjem

Slika 27 predstavlja krivuljo odvisnosti sile od globine vtisa za vzorec posameznega delca. Na osnovi grafov lahko opazimo sipanje rezultatov, kar govori o heterogenih lastnostih delcev (anizotropno obnašanje) na nanometerskem nivoju. Posamezna krivulja predstavlja odziv pripravljenega vzorca saharoze oz. maltitola glede na spremembo globine vtisa konice nanoindenterja v odvisnosti od uporabljeni sile na vzorec. Rezultati kažejo na veliko raznolikost merjenih lastnosti vzorcev. Sipanje rezultatov je lahko tudi posledica ukrivljenosti površine vzorca in defektov samega vzorca. Zavedati se moramo, da na meritve na nanometerskem območju vplivajo poleg hrapavosti površine tudi površinski defekti, nečistote in drugi vplivi. Globina vtisa je večja na hrapavi kot na idealni ravni površini.



Slika 27: Grafa osnovnih komponent sladkornih talin izmerjenih z nanoindenterjem:

a) saharoza, b) maltitol

Preglednica II: Povprečna vrednost Youngovega modula in trdnost osnovnih sestavin slatkornih talin in standardna deviacija določena na nanoindenterju

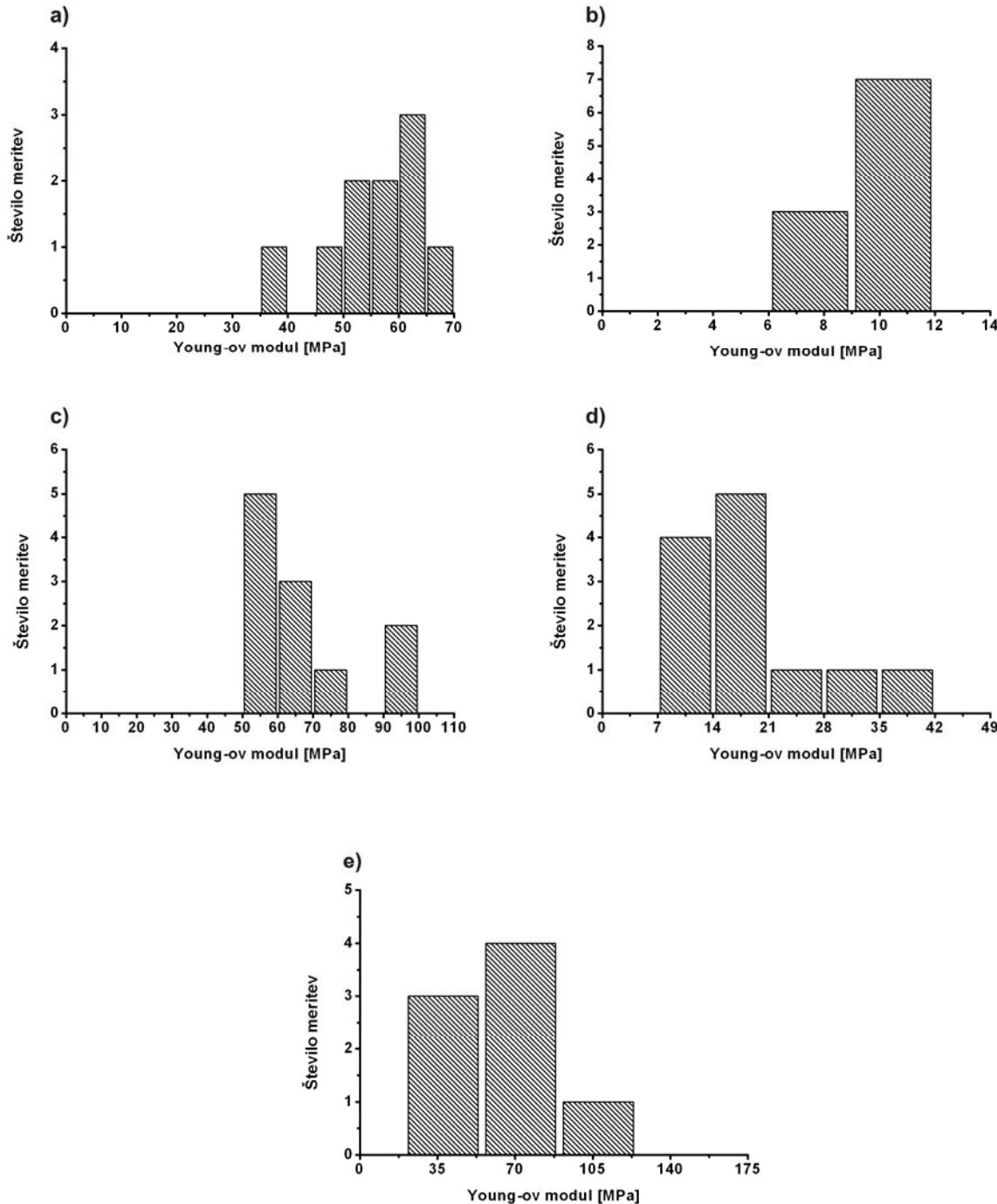
Vzorec	Povprečna vrednost Youngovega modula [GPa]	Trdnost [MPa]
Saharoza	15,6±7,7	400±0,28
Maltitol	30,1±4,5	1120±0,34

Na osnovi značilno nižje vrednosti vtsne trdnosti smo potrdili večjo plastičnost saharoze v primerjavi z maltitolom. To pomeni, da rabimo manjšo silo, da material (saharoza) ireverzibilno spremeni svojo obliko. Saharoza ima manjši E, zato je tudi bolj elastična kot maltitol.

Rezultate izmerjene z nanoindenterjem lahko razložimo na osnovi sestavin slatkornih talin vzorca maltitola, kjer izkazuje večji E, v primerjavi s saharozo (preglednica II).

Rezultati mehanske analize sladkornih talin z reometrom

Rezultati, pridobljeni z diametralnim stiskanjem geometrijsko pravilnih kosov sladkornih talin, so prikazani na histogramu 1 in preglednici III:



Histogram 1: Elastični moduli dobljeni na reometru: a) Osnovna talina BS1, b) Osnovna talina sladkorna S2, c) Izdelek BS1-D1, d) Izdelek vitaminski S-D3, e) Izdelek BS1-D2

Na osnovi histogramov smo izračunali aritmetične sredine Youngovih modulov in jih primerjali med seboj. Primerjali smo kako se vrednosti Youngovega modula ponavljajo s številom meritev.

Preglednica III: Youngov modul sladkornih talin dobljen na reometru

Vzorec	Povprečna vrednost Youngovega modula [MPa]
Osnovna talina BS 1	56 ± 8
Izdelek BS1-D1	66 ± 15
Izdelek BS1-D2	63 ± 22
Osn.talina sladkorna S2	10 ± 2
Izdelek vitaminski S-D3	21 ± 10

Najbolj elastičen je vzorec **Osnovna talina sladkorna S2** sledijo mu: **izdelek vitaminski S-D3 > Osnovna talina BS 1 > Izdelek BS1-D1 > Izdelek BS1-D2** (preglednica III).

Vzorci, ki vsebujejo maltitol in maltitolov sirup (**Osnovna talina BS 1, Izdelek BS1-D1 in Izdelek BS1-D2**) imajo večji Youngov modul in s tem so manj elastični oz. bolj togi v primerjavi z vzorcema, ki vsebujeta saharozo in škrobn sirup (**Osnovna talina sladkorna S2 in Izdelek vitaminski S-D3**) (histogram 1). To je tudi v skladu z E in H pri delcih saharoze in maltitola z nanoindenterjem. Vzorca **Izdelek BS1-D1** in **Izdelek BS1-D2** imata največji E, sta najmanj elastična oz. najbolj toga.

Predvidevamo lahko, da bolj elastično jedro lahko povzroči bolj izrazito pokanje (rigidne) obloge. Glede na to, da prihaja do premikov v strukturi že pri bistveno nižjih temperaturah, kot je definiran Tg, je povsem verjetno, da naši sistemi (posebej tisti na osnovi maltitola) pri sobni temperaturi že »dihajo«, jedro se torej širi ali krči ter obloga poka.

6. SKLEP

1. Z DSC smo s prisotnostjo steklastega prehoda potrdili amorfno (steklasto) stanje obeh sistemov slatkornih talin.
2. Z nanoindenterjem določena Youngov modul (E) in trdnost (H) potrjujeta, da je maltitol manj elastičen od saharoze. Z uporabo reometra smo pri vseh talinah to ponovno potrdili. To pomeni, da so vzorci, ki vsebujejo maltitol manj elastični in bolj togi (trdni) od vseh talin, ki vsebujejo saharozo.
3. Glede na dejstva, da se pokanje oblog pojavlja v večji meri pri vitaminskih izdelkih in pri izdelkih, ki imajo v sestavi jedra več barvil in arom, lahko sklepamo, da do pokanja oblog pride zaradi določene kombinacije dodatkov vitaminov in eteričnih olj. Verjetno bodo bolj pokale pastile, ki imajo več takšnih dodatkov, ki vplivajo na elastičnost strukture. Lahko predpostavimo, da je pokanje oblage posledica sprememb znotraj amorfnega stanja.
4. Problem pokanja oblage pastil v preteklosti ni bil dokončno pojasnjen. Iz naših rezultatov sklepamo, da je delno ta problem gotovo povezan z mehanskimi lastnostmi, tako jedra kot oblage. Rezultatov obnašanja sladkorne oblage ne poznamo, vendar pa lahko iz lastnosti jedra napovemo, da bi verjetno bila boljša jedra iz maltitola. Kot slatkorna obloga bi potencialno bile primernejše bolj elastične saharozne oblage.
5. Smiselna bi bila analiza amorfnega jedra v primerjavi s togo slatkorno oblogo. Poleg tega bi bilo smiselno sistematično določiti vpliv posameznega dodatka na elastičnost/plastičnost taline in dobljene rezultate uporabiti pri optimirjanju obstoječih in pri načrtovanju novih izdelkov.

7. LITERATURA

1. Vrbinc M, Kmetec V: Fizikalna stabilnost in kompatibilnost trdnih snovi v predformulacijskih študijah trdnih farmacevtskih oblik. Farm. vestnik 2002; 53: 367–6.
2. Craig DQM, Royall PG, Kett VL, Hopton ML: The relevance of the amorphous state to pharmaceutical dosage forms: glassy drugs and freezedried systems. Int J Pharm 1999; 179: 179–207.
3. Yu L: Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterisation and stabilization. Adv Drug Deliver Rev 2001; 48: 27–42.
4. Planinšek O: Nekatere metode stabilizacije amorfnih učinkovin. Farm. vestnik 2007; 58: 8–14.
5. Štok B: Mehanika deformabilnih teles, I. del, Fakulteta za strojništvo 1988
6. Ferlan A, Vrečer F: Metode amorfizacije zdravilnih učinkovin. Farm. vestnik 2004; 55: 11–21.
7. Planinšek O, Zajc N, Srčič S: Uporaba diferenčne dinamične kalorimetrije v farmaciji. Farm. vestnik 2001; 52: 173–185.
8. Byrn SR, Pfeiffer RR, Stowell JG: Solid-state chemistry of drugs. 2nd ed. Indiana: SSCI, 1999: 22–25.
9. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME: Handbook of Pharmaceutical Excipients, Sixth edition, 2009: 703–7, 282, 414–5.
10. Kristl J, Šmid-Korbar J, Srčič S: Farmacevtska tehnologija 1. del. Slovensko farmacevtsko društvo, 1992: 92–108.
11. Prelog D: Preiskave slatkornih talin. Magistrsko delo. Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani 2004; 66–7.

12. Allen V: Compounding hard, soft and chewable Troches, Lozenges, Drops. Int J Pharm Comp 1999; 3(6): 461–65.
13. Homar M, Gašperlin M, Kerč J: Tehnologije s talinami. Farm. vestnik 2003; 54: 697–703.
14. Rajtman Z: Vpliv sestavin na termične lastnosti slatkornih talin. Magistrska naloga. Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani 2008.
15. Kerč J: Procesi s taljenjem pri oblikovanju zdravil. Sodobni tehnološki pristopi k oblikovanju zdravil. Zbornik 8. posvetovanja Sekcije farmacevtskih tehnologov 1996; 43–50.
16. Brinox process systems. Dosegljivo na: www.brinox.si/category-3
17. Brittain R.G.: Methods for Characterization of Polymorphs and Solvates. V: Brittain R.G.: Polymorphism in Pharmaceutical Solids, New York: Marcel Dekker, 1999: 227-298.
18. Panjan M, Čekada M: Merjenje mikrotrdote trdnih PVD-prevlek z nanoindenterjem (1.del) – Fizikalna opredelitev trdote. Institut »Jožef Stefan«. Vakuumist 25/3 2005: 9-15.
19. Allen S. M, Thomas E. L: The Structure of Materials, John Willey & Sons, Inc 1999.
20. Panjan M, Čekada M: Merjenje mikrotrdote trdnih PVD-prevlek z nanoindenterjem (2.del) Institut »Jožef Stefan«. Vakuumist 25/4 2005: 8-14.
21. Čekada M, Panjan P: Kako merimo mikrotrdoto in Youngov modul tankih plasti. Institut »Jožef Stefan«. Vakuumist 19/4 1999: 28-9.
22. Lamut M, Fazarinc M, Kugler G: Nov pristop k merjenju lastnosti materialov. Interni časopis skupine SIJ-Slovenska industrija jekla 2011; 9: 22-3.
23. FFA. Dosegljivo na: <http://wwwffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/FT/Oprema/reometer.pdf>
24. Zupančič Valant A: Uvod v reologijo. Ljubljana, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani, 2007.

25. Oliver W.C., Pharr G.M.: Measurement of hardness and elastic modulus by instrumented indentation: Advances in understanding and refinements to methodology. *J. Mater. Res.* 2004 (19): 3-20.
26. Popov-Raljić J, Stojšin L: Tehnologija konditorskih proizvoda. Beograd, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet Beograd-Zemun, 2007.
27. Govedarica B: Vrednotenje površinskih in mehanskih lastnosti farmacevtskih surovin in izdelkov na nivoju delcev z uporabo mikroskopije na atomsko silo. Doktorska naloga. Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani 2011.
28. Conamaste. Dosegljivona:http://www.conamaste.si/eng/Oprema_PopUp.php?link=Reometer&img=Reometer&alt=Rheometer
- 29: Brinox. Dosegljivo na: <http://www.brinox.si/category-5-171>