

Univerza v Ljubljani
Fakulteta *za farmacijo*



URŠKA MLINAR

**VREDNOTENJE UPORABE BLIŽNJE INFRARDEČE (NIR) SPEKTROSKOPIJE ZA
SPREMLJANJE HOMOGENOSTI VSEBNOSTI V PROCESU MEŠANJA**

EVALUATION OF THE USE OF NEAR INFRARED (NIR) SPECTROSCOPY FOR
MONITORING THE CONTENT UNIFORMITY IN THE MIXING PROCESS

Ljubljana, 2014

Magistrsko delo sem opravljala v podjetju Lek d. d. Proizvodnja penicilinskih izdelkov Prevalje, pod mentorstvom prof. dr. Stanka Srčiča, mag. farm.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Stanku Srčiču, mag. farm. za usmerjanje in strokovno pomoč pri izdelavi magistrske naloge.

Posebna zahvala gre podjetju Lek d. d. Proizvodnja penicilinskih izdelkov, da so mi omogočili praktično izvedbo raziskovalnega dela. Še posebej hvala delovni mentorici dr. Kseniji Poljanec za pomoč, strokovne nasvete in konstruktivne debate pri izvedbi meritev in pri izdelavi magistrske naloge. Hvala tudi mag. Janezu Grošlju in vsem ostalim zaposlenim za pomoč pri izvedbi praktičnega dela.

Hvala vsem kolegicam in kolegom, ki so me vestno vabili stran od knjig in mi tako popestrili študijska leta.

Iskrena hvala staršem, sestri in starim staršem za vso podporo pri študiju in spodbudne besede.

IZJAVA

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod vodstvom mentorja prof. dr. Stanka Srčiča, mag. farm.

Ljubljana, 2014

Urška Mlinar

Diplomska komisija:

Predsednik: izr. prof. dr. Matjaž Jeras, mag. farm.

Mentor: prof. dr. Stanko Srčič, mag. farm.

Somentorica: dr. Ksenija Poljanec

Član: doc. dr. Igor Locatelli, mag. farm.

KAZALO

POVZETEK	VI
ABSTRACT	VII
SEZNAM OKRAJŠAV	VIII
UVOD	1
1.1. MEŠANJE V FARMACEVTSKI INDUSTRIJI	1
1.1.1. TIPI ZMESI.....	2
1.1.2. SEGREGACIJA	1
1.1.3. VZORČENJE	5
1.1.4. TIPI MEŠALNIKOV	6
1.1.5. POMEN HOMOGENOSTI ZMESI V FARMACEVTSKI INDUSTRIJI	8
1.2. BLIŽNJA INFRARDEČA SPEKTROSKOPIJA (NIR)	9
1.2.1. INFRARDEČA SPEKTROSKOPIJA (IR).....	9
1.2.2. BLIŽNJA INFRARDEČA SPEKTROSKOPIJA (NIR).....	10
1.3. OBDELAVE SPEKTROV	14
1.3.1. MATEMATIČNA OBDELAVA SPEKTROV	14
1.3.2. KALIBRACIJA ZA KVANTITATIVNO ANALIZO.....	15
2. NAMEN IN NAČRT DELA	17
3. MATERIALI IN METODE DELA	18
3.1. MATERIALI	18
3.1.1. MIKROKRISTALNA CELULOZA (MCC)	18
3.1.2. UČINKOVINA (API)	20
3.2. NAPRAVE	22
3.2.1. NIR INŠTRUMENT – Antaris Target Blend Analyzer	22
3.2.2. MEŠALNIK IN KONTEJNER.....	24
3.3. METODE	25
3.3.1. OBSTOJEČA METODA ZA DOLOČEVANJE ENAKOMERNOSTI VSEBNOSTI.....	25
3.3.2. NIR METODA	27
4. REZULTATI IN RAZPRAVA	36
4.1. SPREMLJANJE NIR SPEKTROV MED MEŠANJEM	37

4.2. SPREMLJANJE STANDARDNE DEVIACIJE RAZLIK MED NIR SPEKTRI V PROCESU MEŠANJA	39
4.3. KVANTITATIVNA OBDELAVA SPEKTROV	44
4.4. PRENOS MODELA V PROCES MEŠANJA	58
5. ZAKLJUČEK.....	60
6. LITERATURA	61

SEZNAM SLIK

<i>Slika 1: Razporeditev delcev po mešanici.....</i>	1
<i>Slika 2: Urejene zmesi, adsorpcija manjših delcev na večje</i>	1
<i>Slika 3: Trajektorna segregacija</i>	3
<i>Slika 4: Perkolacija finih delcev</i>	4
<i>Slika 5: Dvig grobih delcev ob vibriranju</i>	4
<i>Slika 6: Segregacija zaradi pretoka zraka.....</i>	5
<i>Slika 7: a)Sonda s stranskimi vzorčevalnimi prostori; b)Sonda z vzorčevalnim prostorom na dnu sonde</i>	1
<i>Slika 8: Oktogonalni mešalnik s</i>	1
<i>Slika 9: Masni mešalnik.....</i>	1
<i>Slika 10: Mešalniki tipa V.....</i>	1
<i>Slika 11: Mešalnik tipa dvojni stožec</i>	1
<i>Slika 12: Mešalnik s kontejnerjem</i>	1
<i>Slika 13: Spekter elektromagnetnega valovanja.....</i>	9
<i>Slika 14: a)Vzdolžna valenčna nihanja; b) Upogibna nihanja.....</i>	1
<i>Slika 15: IR regija razdeljena na daljno, srednje in bližnje območje.....</i>	10
<i>Slika 16: NIR spekter učinkovine</i>	21
<i>Slika 17: NIR spektri vzorcev učinkovine šestih različnih serij</i>	22
<i>Slika 18: Predelan pokrov mešalnika v sredini je vgrajeno safirno steklo, skozi katerega inštrument snema zmesi (slika levo); uporabljeni NIR inštrument (slika desno)</i>	24
<i>Slika 19: Položaj mešalnika v katerem inštrument lahko posname spekter</i>	1
<i>Slika 20: Vpenjalni mešalnik (slika levo); kontejner z nameščenim NIR inštrumentom pritrjen na nosilno ploščo vpenjalnega mešalnika (slika desno)</i>	1
<i>Slika 21: Shema vzorčevalnih mest za validacijo, pri rednih serijah se za potrebe HPLC analize vzorči na sredini po celotni dolžini s sondo z enim vzorčevalnim mestom na dnu sonde</i>	26
<i>Slika 22: Navzgor obrnjen NIR inštrument s pritrjenim predelanim pokrovom (slika levo); kovinski valj postavljen na pokrov mešalnika tako, da je merilno okno v sredini valja (slika desno)</i>	1
<i>Slika 23: Prikaz snemanja standardnih vzorcev za izgradnjo kalibracijske krivulje za snemanje spektrov na mešalniku: vzorec v valju obtežen z 2 kg utežjo.....</i>	1
<i>Slika 24: Graf spektrov standardnih vzorcev za izgradnjo modela za snemanje ob mešanju</i>	32
<i>Slika 25: Primerjava kvantitativnih podatkov ene zmesi, pridobljenih z uporabo različnih metod</i>	33
<i>Slika 26: Izdelana kalibracijska krivulja z izbrano metodo SNV in prvi odvod</i>	35
<i>Slika 27: Tehnološki postopek priprave zmesi.....</i>	36
<i>Slika 28: Čisti NIR spektri posneti z NIR inštrumentom med mešanjem ene zmesi.....</i>	38
<i>Slika 29: Premikajoči blok standardne deviacije (MBSD)</i>	39
<i>Slika 30: Krivulja spreminjanja standardne deviacije (MBSD) razlik med NIR spektri v procesu mešanja</i>	42
<i>Slika 31: Vse krivulje spreminjanja standardnih deviacij (MBSD) razlik med NIR spektri</i>	44
<i>Slika 32: Absorpcijski trakovi funkcionalnih skupin v NIR območju.....</i>	44

Slika 33: a) Izbrane regije – celotno NIR območje; b) Kalibracijska krivulja – uporabljeni spektri celotne NIR regije	46
Slika 34: a) Izbrane regije CH skupin; b) Kalibracijska krivulja – uporabljena regija CH skupin.....	47
Slika 35: a) Izbrana nekoliko ožja regija od celotnega območja NIR; b) Kalibracijska krivulja – nekoliko ožje NIR območje.....	48
Slika 36: Krivulje kvantitativne obdelave spektrov enega mešanja z uporabo vseh treh modelov.....	51
Slika 37: Graf spreminjanja vsebnosti učinkovine za vse posnete zmesi.....	54
Slika 38: Primerjava zmesi z največjimi odstopanji v času doseganja homogene vsebnosti	55
Slika 39: Graf spreminjanja standardne deviacije (MBSD) razlik med NIR spektri zmesi, katerih krivulji spreminjanja vsebnosti učinkovine sta najbolj odstopali	57
Slika 40: Prikazovanje spreminjanja: a) Površine pod NIR spektri; b) Vsebnost učinkovine v deležih; c) Vsebnost pomožne snovi (mikrokristalna celuloza) v deležih; d) Standardne deviacije razlik med NIR spektri (MBSD).....	58

SEZNAM PREGLEDNIC

Preglednica I: Primerjava uporabe NIR spektroskopije za kvantitativno in kvalitativno analizo.	13
Preglednica II: Fizikalne lastnosti mikrokristalne celuloze.	18
Preglednica III: Priprava standardnih vzorcev zmesi v različnih razmerjih API : MCC.....	27
Preglednica IV: Rezultati HPLC analize za vsebnost učinkovine v standardnih vzorcih	31
Preglednica V: Primerjava vsebnosti učinkovine v standardnih vzorcih izmerjene s HPLC in z NIR inštrumentom.....	31
Preglednica VI: Primerjava SNV in MSC metode v kombinaciji s prvim odvodom, drugim odvodom in čistimi spektri	33
Preglednica VII: Standardne deviacije razlik med NIR spektri izračunane v vsakem obratu mešalnika (Št.)v ciklu mešanja	41
Preglednica VIII: Rezultati kvantitativne obdelave (vsebnost API v deležu) NIR spektrov od vsakega zaporednega obrata mešalnika enega mešanja z uporabo vseh treh modelov (A, B, C)	49
Preglednica IX: Zadnje tri vrednosti vsebnosti učinkovine pri mešanju vseh mešanic.....	52
Preglednica X: Fizikalne lastnosti učinkovine v dveh zmesih z največjimi odstopanji v času doseganja homogene vsebnosti	55

POVZETEK

Farmacevtska industrija si prizadeva k čim hitrejšemu sproščanju produktov na tržišče, zato so zmeraj pogostejše optimizacije procesov pri pripravi farmacevtskih oblik. Veliko časa porabijo za ugotavljanje kakovosti produkta z vzorčenjem in analizami, zato si industrija prizadeva, da bi vgradili kakovost v sam produkt, njegovo ustreznost pa bi že med samim procesom izdelave spremljali s pomočjo procesne tehnologije (PAT), ki nam omogoča medprocesno spremljanje določenih parametrov in tako končne analize niso več potrebne.

V magistrski nalogi smo se osredotočili na proces mešanja praškov, kjer gre za kompleksen in še vedno slabo razumljiv proces. Kontrola kakovosti izdelka se izvaja s končnim vzorčenjem, ki lahko poruši homogenost mešanice, reprezentativnost vzorcev pa je lahko slaba. Pri iskanju nadomestne analitske metode smo se odločili za uporabo bližnje infrardeče (NIR) spektroskopije, ki je neinvazivna in hitra metoda, pri kateri ni potrebna dodatna predpriprava vzorcev in uporaba topil.

Analize smo izvedli v farmacevtskem obratu Proizvodnja penicilinskih izdelkov Prevalje podjetja Lek d. d. Za namen testiranja smo uporabili brezžični NIR inštrument, ki smo ga pritrdili na pokrov mešalnika, tako da se je inštrument vrtel skupaj s kontejnerjem. Posnete NIR spektre smo s pomočjo predhodno pripravljene kalibracijske krivulje matematično obdelali, in iz njih dobili kvantitativne podatke. Končno točko mešanja smo določali s pomočjo standardne deviacije med spektri od začetka do konca mešanja oz. preko kalibracijske enačbe, zgrajene na osnovi referenčnih HPLC meritev.

Bližnja infrardeča (NIR) spektroskopija se je pokazala kot ustrezna metoda za določanje homogenosti vsebnosti, poleg tega pa ima še številne druge prednosti, kot je natančno in sprotno spremljanje procesa mešanja in s tem takojšnja zaznava napak v procesu, in ugotavljanje končne točke mešanja. Dodatna prednost je hitrost analize, neinvazivno vzorčenje ter odsotnost predpriprave vzorcev.

Ključne besede: bližnja infrardeča (NIR) spektroskopija, enakomernost vsebnosti, mešanje prahov.

ABSTRACT

The pharmaceutical industry strives to make rapid release of products on the market; therefore there are more frequent optimizations of processes in the preparation of pharmaceutical dosage forms. A lot of time is spent on determining the quality of a product with sampling and analyzing, and that is why the industry seeks to embed the quality of the product into the product itself. Its relevance would be monitored during the manufacturing process by using process analytical technology (PAT), which allows us to in-process monitoring of certain parameters and thus the final analysis is not required.

In the thesis we focus on the process of mixing powders, which is a complex and poorly understood process. Quality control of the product is carried out with the final sampling, which can disturb the homogeneity of the mixture and the representativeness of the samples can be bad. In the search for alternative methods of analysis, we decided to use near-infrared (NIR) spectroscopy, which is a non-invasive and rapid method and does not require additional pretreatment of samples and the use of solvents.

Analyses were performed in a pharmaceutical plant production of penicillin products Prevalje Lek d. d. For the purpose of testing, we used the wireless NIR instrument, which was fastened to the lid of the mixer so that it is rotated along with the container. NIR spectra were recorded by using the previously prepared calibration curve, mathematically analyzed to yield quantitative information. The final end points of mixing were determined by using the standard deviation between the spectra mix from start to finish or through the calibration equation, built on the basis of the reference HPLC measurements.

A near infrared (NIR) spectroscopy has proven to be a suitable method for the determination of the homogeneity of the content and it has a number of other advantages, such as the precise and continuous monitoring of the process of mixing and thereby detects the instantaneous errors in the process, and the determination of the end point of mixing. An additional advantage is the speed of analysis, non-invasive sampling and the absence of pre-treatment.

Key words: near-infrared (NIR) spectroscopy, content uniformity, powder mixing.

SEZNAM OKRAJŠAV

API ... (Active Pharmaceutical Ingredient), učinkovina

EMV ... Elektromagnetno valovanje

HPLC ... (High Performance Liquid Chromatography), tekočinska kromatografija visoke ločljivosti

InGaAs ... (Indium Gallium Arzenid), indijev galijev arzenid

IR ... infrardeča

MBSD ... (Moving Block Standard Deviation), premikajoči blok standardne deviacije

MCC ... (Microcrystalline Cellulose), mikrokristalna celuloza

MEMS ... (Micro Electro Mechanical System), mikro elektronsko mehanski sistem

MSC ... (Multiplicative Scatter Correction), multiplikativni popravek raztresenih podatkov

NIR ... (Near Infrared), bližnja infrardeča

PAT ... (Process Analytical Technology), procesna analizna tehnologija

PbS ... svinčev sulfid

PLS ... (Partial Least Squares), metoda najmanjših delnih kvadratov

PVC ... polivinil klorid

QbD ... (Quality by Design), načrtovanje kakovosti

SD ... (Standard Deviation), standardna deviacija

SEC ... (Standard Error of Calibration), standardna napaka ocene modela

SEP ... (Standard Error of Prediction), standardna napaka napovedi modela

SNV ... (Standard Normal Variate), SNV vektorska transformacija

UVOD

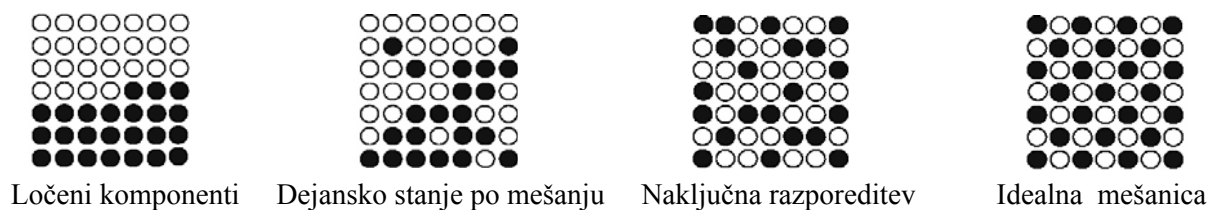
1.1. MEŠANJE V FARMACEVTSKI INDUSTRIJI

Mešanje je eden izmed osnovnih in tudi pomembnih procesov v farmacevtski industriji, saj je večina učinkovin in pomožnih snovi, ki se uporabljajo za izdelavo končnih farmacevtskih oblik v obliki praškov, proces proizvodnje vsake trdne farmacevtske oblike pa se začne s tehtanjem, združevanjem in mešanjem surovin (1, 2). Delež trdnih farmacevtskih oblik na tržišču se povečuje, zato je tudi povečana želja po optimizaciji procesa mešanja, in sicer v: krajšanju časa mešanja, zviševanju mase zmesi v mešalnikih (serije) itd., ter seveda, da je zmes po končnem mešanju homogena (3).

Mešanje je proces, ki porablja energijo tako, da povzroči naključno razporeditev delcev po volumnu zmesi, pri tem pa lahko nastanejo dvokomponentne ali več-komponentne zmesi, odvisno od števila uporabljenih komponent surovin. Na samo učinkovitost mešanja pa vplivajo številni dejavniki:

- lastnosti delcev, kot so velikost, distribucija velikosti delcev, oblika, gostota delcev, kohezivnost, higroskopsnost in trdnost;
- tipi mešalnikov: hitrost mešanja, čas mešanja, volumen zmesi in gibanje delcev v mešalniku;
- nagnjenje k segregaciji zaradi razlike v gostoti med delci (2, 3).

Idealno mešanico dveh različnih tipov delcev imamo, kadar vzorci, vzeti iz različnih mest v mešanici, vsebujejo enak delež delcev istega tipa, kot v celotni mešanici. Naključno mešanico imamo, kadar je možnost prisotnosti delca ene komponente po vsej mešanici enaka, prav tako pa je delež prisotnosti delcev ene komponente enak v celotni zmesi (2, 6).



Slika 1: Razporeditev delcev po mešanici

Cilj mešanja je dobiti idealno mešanico, kar pa ni dosegljivo, zato si prizadevamo, da bi se čim bolj približali idealni mešanici. To pa lahko dosežemo z izbiro ustreznega mešalnika in z dovolj dolgim časom mešanja (2, 3).

Mešanje suhih praškov

Proces mešanja suhih praškov je iz empiričnega procesa postal natančno kontroliran proces, čemur je močno pripomoglo razumevanje obnašanja nekohezivnih binarnih sistemov delcev. Da lahko neki proces označimo kot mešanje, moramo delce večkrat razporediti znotraj zmesi, to pa lahko naredimo na več načinov, na primer s prevračanjem, strigom, z zajemanjem in z gnetenjem (3).

1.1.1. TIPI ZMESI

a) Dobro pretočne zmesi

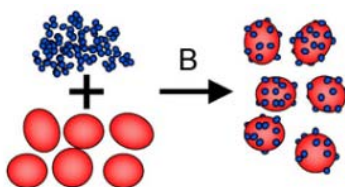
Zmesi z dobrimi pretočnimi lastnostmi imajo veliko prednosti, saj ne potrebujejo dodatnih količin drsljivca, prav tako pa se lažje polnijo preko polnilnega čolnička v matrico pri tabletiranju. Slabosti zmesi z dobrimi pretočnimi lastnostmi pa so, da hitro podležejo segregaciji posamezne komponente po končanem mešanju. Delci se lahko premikajo zaradi dobre drsljivosti in zaradi sile med delci, zato potrebujejo takšne zmesi poseben postopek pri pakiranju, in sicer uporabo polietilenskih vreč in uporabo vakuuma (3, 4).

b) Kohezivne zmesi

Kohezivne zmesi imajo lepljive lastnosti in slabe pretočne lastnosti. Pojav segregacije je manjši, predvsem se pojavi na račun tvorbe manjših aglomeratov med mešanjem. Na nastanek kohezivnih zmesi vplivajo vlaga, elektrostatski naboj, van der Waalsove sile in tvorba trdnih mostičkov med delci (3, 4).

c) Urejene zmesi (Ordered mixtures)

Urejene zmesi nastanejo, kadar združimo surovino z večjimi delci in surovino, kjer so delci majhni. Pri tem večji delci adsorbirajo manjše in zato nastane t. i. urejena zmes (3, 4).



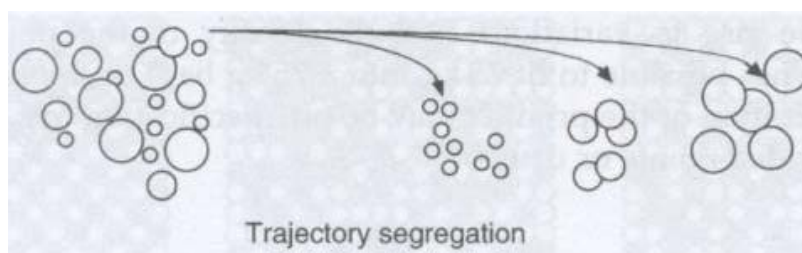
Slika 2: Urejene zmesi, adsorpcija manjših delcev na večje

1.1.2. SEGREGACIJA

Vse praškaste zmesi imajo različno nagnjenost k segregaciji med mešanjem ali po končanem mešanju, kar ima neposreden vpliv na kakovost produkta. Do pojava segregacije pride predvsem zaradi razlik v velikosti delcev med različnimi komponentami, razlik v gostoti in zaradi interakcij med komponentami. Izvor segregacije je gravitacija, dodatna vibracija pa jo še dodatno povečuje (5, 6).

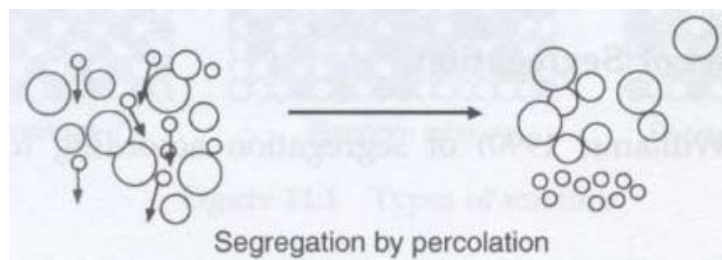
Glede na velikost delcev poznamo 4 vrste segregacije.

- a) **Trajektorna segregacija:** se pojavi zaradi razlik med delci v velikosti in gostoti, saj tisti delci z 2 x večjim premerom pri gibanju med mešanjem potujejo štirikrat dlje (5, 6).



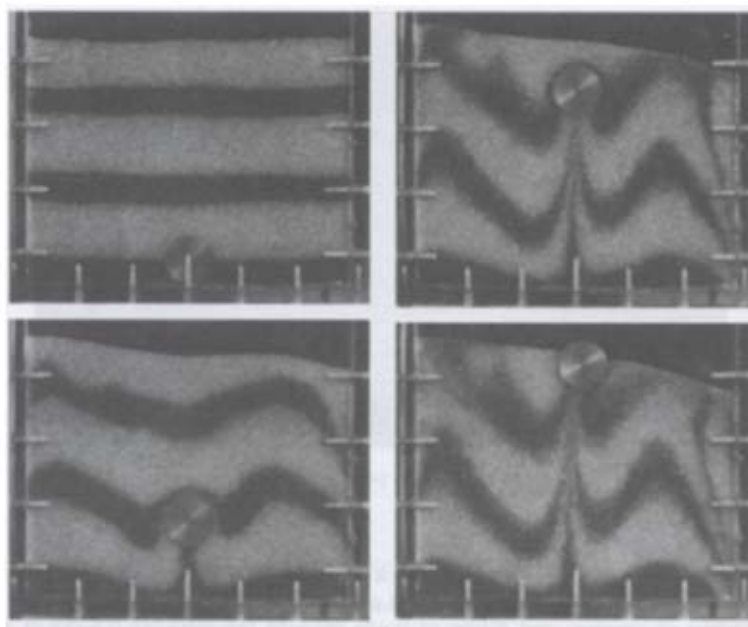
Slika 3: Trajektorna segregacija

- b) **Perkolacija:** se pojavi, kadar je masa delcev tako različna, da pride do premikanja posameznih delcev po zmesi. Prostori med večjimi delci omogočajo manjšim delcem, da se vrinejo mednje in se posedejo na dno, večji delci pa se pomaknejo navzgor. Že majhna razlika v velikosti delcev lahko povzroči segregacijo, še posebej, če je zmes izpostavljena mešanju, stresanju ali vibracijam (5, 6).



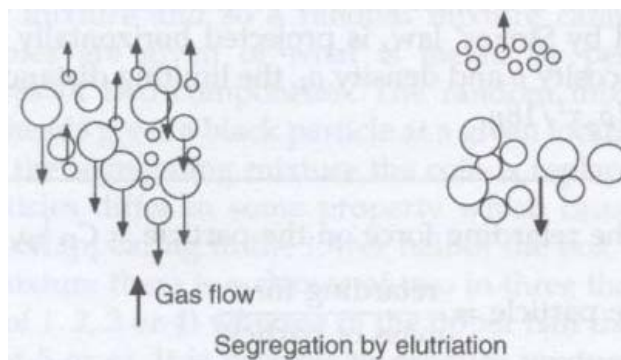
Slika 4: Perkolacija finih delcev

- c) **Flotacija (dvig) grobih delcev ob vibriranju:** se pojavi, kadar so delci različnih velikosti izpostavljeni vibriranju, pri tem pa se večji delci pomikajo navzgor. Ta pojav imenujejo še efekt »brazilskega oreščka«, in pri njem opazimo ustvarjanje in polnjenje praznih prostorov pod večjim delcem z manjšimi delci (slika 5) (5, 6).



Slika 5: Dvig grobih delcev ob vibriranju

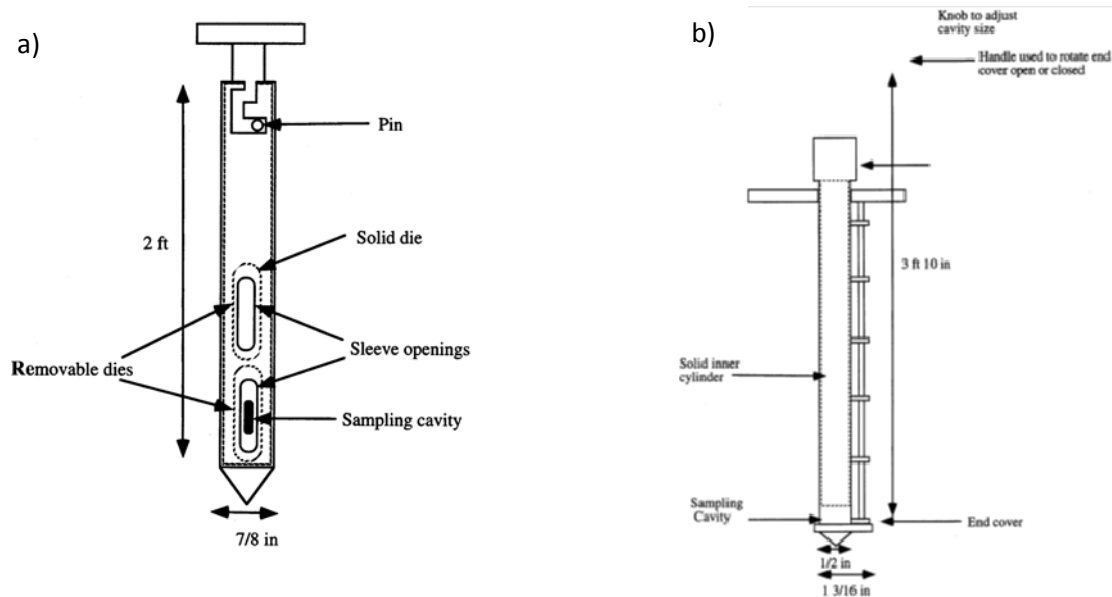
- d) **Segregacija zaradi pretoka zraka:** se pojavi, kadar imamo mešanico, v kateri je večina delcev manjših od $50 \mu\text{m}$. Ko takšno mešanico premestimo iz ene v drugo posodo, izpodrinjeni zrak potisne manjše delce navzgor, težji delci pa se posedejo oz. ostanejo na mestu (slika 6) (5, 6).



Slika 6: Segregacija zaradi pretoka zraka

1.1.3. VZORČENJE

Če hočemo zagotoviti kakovostno zmes, potem moramo preveriti distribucijo delcev in homogenost vsebnosti. To izvedemo z vzorčenjem. Najbolj pogosto se za zbiranje vzorcev uporablja vzorčevalna sonda, ki predstavlja invazivno vzorčenje, takšno vzorčenje pa lahko povzroči velike napake v sestavi vzorčka, saj delci z boljšimi pretočnimi lastnostmi lažje prehajajo v vzorčevalne prostore sonde, kohezivni delci pa težje. Poznamo dve obliki vzorčevalnih sond: sonde s stranskimi vzorčevalnimi prostori, kjer vzorec sam preide v ta prazni prostor in sonde, ki imajo samo en vzorčevalni prostor na dnu sonde, kjer vzorec poberemo s silo potiska skozi material (slika 7) (7, 10).



Slika 7: a)Sonda s stranskimi vzorčevalnimi prostori; b)Sonda z vzorčevalnim prostorom na dnu sonde

Pri vzorčenju pa se soočamo s številnimi problemi:

- lahko se poruši homogenost z vstavljanjem sonde v mešanico;
- delci z različnimi velikostmi imajo različno težnjo do prehajanja v vzorčevalne prostore sonde;
- kohezivni prahovi izkazujejo zmanjšano težnjo po prehodu v vzorčevalne prostore sonde, posledica pa je lahko manjša velikost vzetega vzorca;
- pri sondi z mestom jemanja vzorčkov na dnu se lahko zgodi, da je večina delcev vzetih iz površine zmesi (7, 10).

1.1.4. TIPI MEŠALNIKOV

OKTAGONALNI MEŠALNIK S CILINDRIČNIM KONTEJNERJEM (ang. Octagonal Blender with Cylindrical Container)

Oktagonalni mešalnik se veliko uporablja v farmacevtski industriji za mešanje granulotov in prahov. V osrednjem delu in zgornjem delu je pravokotne oblike, na spodnjem delu pa se zaključuje v poligonalni stožec. Za lažje in učinkovitejše mešanje so v notranjosti nameščene pregrade. Priporočeni volumen zmesi je približno dve tretjini kontejnerja. Njegove prednosti so predvsem lahko čiščenje in počasna hitrost mešanja, kar je še posebej učinkovito pri mešanju granulotov (8).



Slika 8: Oktagonalni mešalnik s cilindričnim kontejnerjem

MASNI MEŠALNIK (ang. Mass Mixer)

Masni mešalnik je specifični mešalnik v farmacevtski industriji in se uporablja za mešanje mokrih kot tudi suhih praškov in lepljivih zmesi, ki jih je drugače težko mešati. V notranjosti so okoli vodoravne osi nameščena



Slika 9: Masni mešalnik

vesla z lopaticami, ki se enakomerno in z nizko hitrostjo vrtijo okoli vodoravne osi. Na vrhu mešalnika je nameščen transparentni poli-karbonatni pokrov, skozi katerega lahko vizualno spremljamo mešanje (8).

MEŠALNIKI TIPA V (ang. V-Type Blenders)

Gre za najbolj uporabljan mešalnik v farmacevtski industriji za mešanje suhih praškov. Med vrtenjem mešalnika zmes enkrat pade v oba kraka »črke V«, drugič pa v spodnji del »črke V« in tako omogoča kontinuirano gibanje delcev. Prednosti mešalnika so enostavno praznjenje in polnjenje in enostavno čiščenje (8).



Slika 10: Mešalniki tipa V

MEŠALNIK TIPA DVOJNI STOŽEC (ang. Double Cone Blender)

Mešalnik je učinkovit pri mešanju suhih praškov in granulotov. V osrednjem delu je oblike valja, na vrhu in na dnu pa se zaključijo v obliko stožca. Takšna oblika mešalnika omogoča enotno mešanje in lahko polnjenje in praznjenje. Po potrebi se lahko v notranjost mešalnika namestijo tudi mešala (8).



Slika 11: Mešalnik tipa dvojni stožec

MEŠALNIK S KONTEJNERJEM (ang. Bin/Conta Blender)

Mešalnik s kontejnerjem je uporaben za mešanje suhih praškov pri proizvodnji tablet ali kapsul. Kontejner, v katerega pripravimo material, vpnemo na mešalnik, ki vrti kontejner, tako da se material premeša s prevračanjem. Prednost takšnega mešalnika je, da lahko kontejner po končanem mešanju neposredno prenesemo v naslednjo stopnjo proizvodnje (npr. lahko ga namestimo neposredno na tabletko). Takšen tip mešalnika smo



Slika 12: Mešalnik s kontejnerjem

uporabljali tudi pri izvajanju meritev z NIR inštrumentom (9).

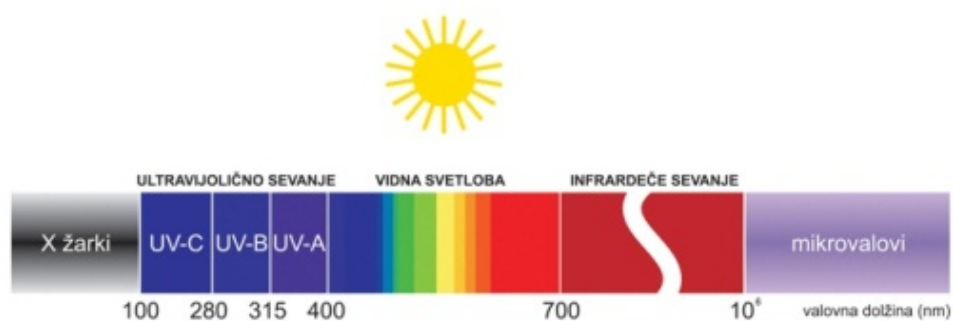
1.1.5. POMEN HOMOGENOSTI ZMESI V FARMACEVTSKI INDUSTRIJI

Mešanje je sicer eden izmed najbolj enostavnih in osnovnih procesov v farmacevtski industriji, vendar je tudi en izmed najtežje kontroliranih procesov, saj na končno homogenost vplivajo različni kritični parametri procesa, kot so: tip mešalnika, čas mešanja, količina materiala v mešalniku, vlažnost surovin, velikost delcev, oblika delcev, nasipna gostota, vzorčenje po končnem mešanju itd. (1, 10). Tako nam npr. daljši čas mešanja ali/in večja hitrost mešanja ne zagotavljata vedno homogenosti zmesi, saj lahko zmes med mešanjem zapade v turbulence in pride do razslojevanja komponent v zmesi. Ker se za ugotavljanje homogenosti zmesi vzorči po končanem mešanju, je težko spremljati, kaj se dogaja med samim mešanjem. Zato se v zadnjem času veliko uporablja procesna analizna tehnologija (ang. Process Analytical Technology, PAT), s pomočjo katere je možno spremljati celoten proces mešanja, kar nam omogoča vgradnjo kakovosti v sam izvedeni tehnološki proces (Quality by Design, QbD). Z uporabo PAT tehnologije lahko z »in line« meritvami (uporaba NIR spektroskopije) skrajšamo proizvodne procese in zmanjšamo obseg končnega vzorčenja ter število analiz. To ni pomembno le iz ekonomskega vidika, ampak tudi zaradi zmanjšanja možnosti napak pri vzorčenju in zaradi zmanjšane možnosti segregacije zmesi zaradi invazivnega vzorčenja pri klasičnih kontrolah (11, 12).

1.2. BLIŽNJA INFRARDEČA SPEKTROSKOPIJA (NIR)

1.2.1. INFRARDEČA SPEKTROSKOPIJA (IR)

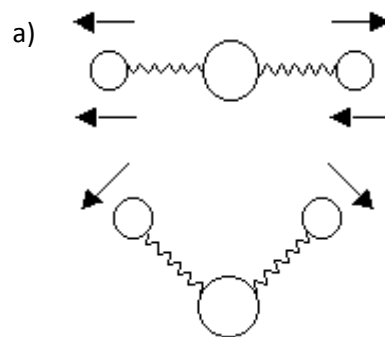
Infrardeča spektroskopija (IR) je najbolj pogosto uporabljena spektroskopska tehnika. Infrardeče sevanje se razteza čez del elektromagnetnega spektra, ki ima valovno število med 13000 cm^{-1} do 10 cm^{-1} oz. valovno dolžino med 780 nm do 10^6 nm . Začne se pri višji frekvenčnih območjih na koncu vidnega dela regije in se konča pri nizkih frekvencah na začetku mikrovalovnega dela regije (13).



Slika 13: Spektar elektromagnetnega valovanja

Molekula absorbira elektromagnetno valovanje (EMV) v IR območju takrat, ko zaradi dipolnega momenta vezi v molekuli zavibrirajo. Torej večja, kot je sprememba dipolnega momenta, močnejše so IR vibracije. Atomi v molekuli nimajo fiksne lege, ampak nihajo okoli ravnovesne lege. Ta nihanja lahko razdelimo na dve kategoriji:

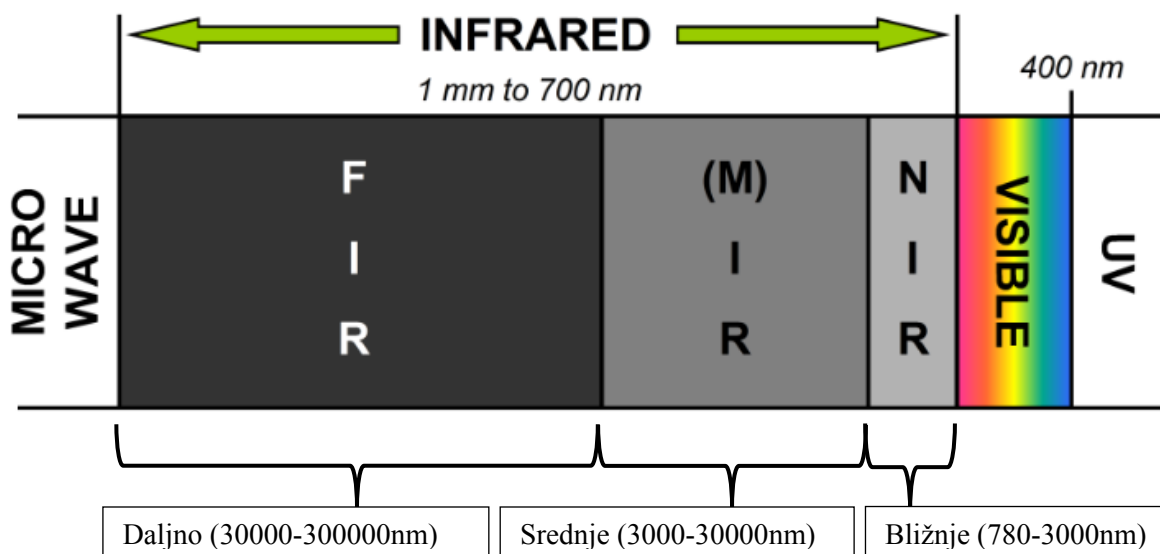
- Vzdolžna valenčna nihanja (Streching): spreminja se razdalja med atomoma v molekuli
- Upogibna nihanja (Bending): spreminja se kot med dvema vezema in glede na smer gibanja ločimo: kolebanje (rocking), striženje (scissoring), zibanje



Slika 14: a) Vzdolžna valenčna nihanja; b) Upogibna nihanja

(wagging), zvijanje (twisting) (14).

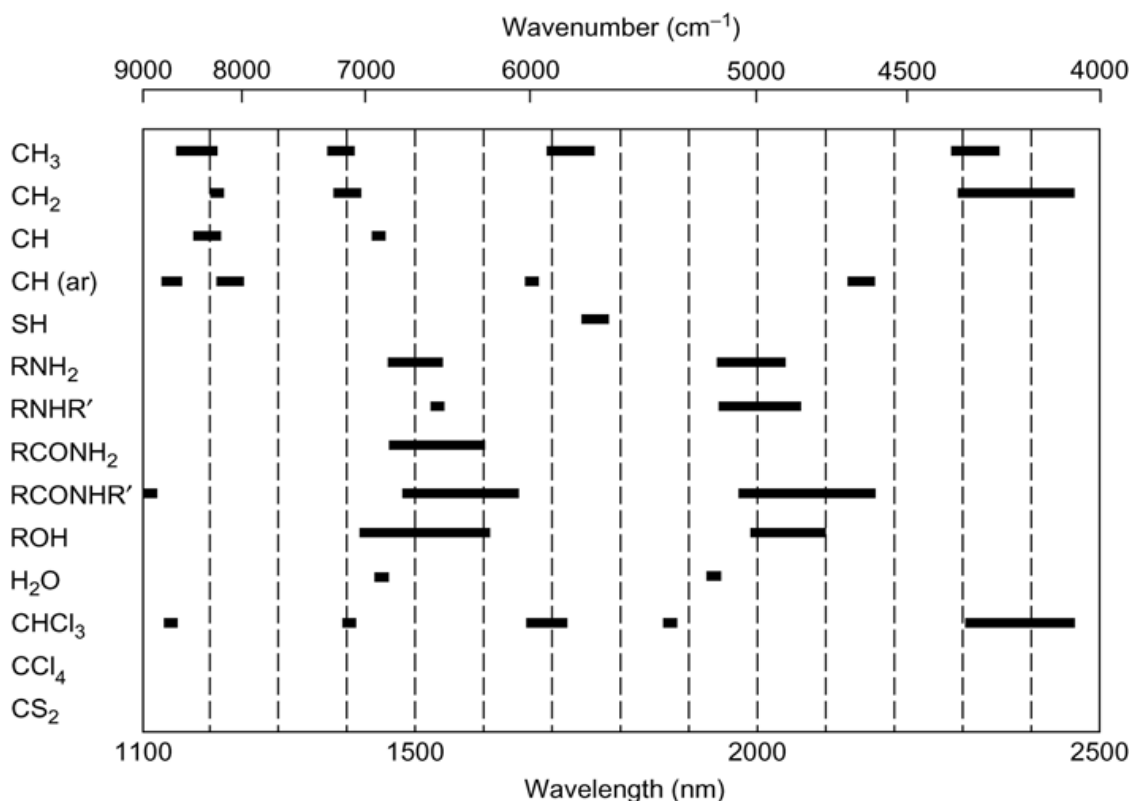
IR regija je običajno razdeljena na tri manjša območja: bližnje (Near), srednje (Mid) in daljno (Far) (13).



Slika 15: IR regija razdeljena na daljno, srednje in bližnje območje

1.2.2. BLIŽNJA INFRARDEČA SPEKTROSKOPIJA (NIR)

Bližnja infrardeča spektroskopija (NIR) je hitra in nedestruktivna analitska metoda, ki prikazuje tako kemijske kot tudi fizikalne lastnosti različnih molekul, pri tem pa ni potrebna posebna priprava vzorca in uporaba organskih topil. NIR regija se nahaja v območju elektromagnetnega spektra pri valovni dolžini med 780–2526 nm, oz. pri valovnem številu 12820–3959 cm^{-1} . Najbolj prepoznavni absorpcijski pasovi v spektru nastanejo kot posledica pomnoževanja osnovne frekvence, takšno nihanje imenujemo višji harmonični toni (ang. Overtones), ali kot posledica kombinacij osnovnih frekvenc nihanj (ang. Combinations). Pojavijo se predvsem pri nihanju vezi $-\text{CH}$, $-\text{NH}$, $-\text{OH}$, (in $-\text{SH}$) funkcionalnih skupin (15, 16).



Slika 15: Absorpcijski trakovi funkcionalnih skupin v NIR območju

NIR spektrometer je običajno sestavljen iz izvora svetlobe, monokromatorja, vzorca in detektorja, ki je sposoben meriti transmitanco ali pa difuzno reflektanco (odboj svetlobe v notranjosti vzorca). Izvor svetlobe je po navadi volframova halogenska žarnica, detektorji pa so lahko iz silikona, svinčevega sulfida (PbS) ali iz indijevega galijevega arzenida (InGaAs). Pri merjenju moramo upoštevati, da nam NIR poleg kemijskih lastnosti prikazuje tudi fizikalne lastnosti. Zato lahko pride do napak v interpretaciji spektrov zaradi razlik v zbiti in nasipni gostoti praškov, različne velikosti delcev ali zaradi različne postavitve tablet oz. kapsul. NIR inštrumenti so namenjeni za »in-line« ali »on-line« meritve in tako zagotavljajo meritve v realnem času (15, 16).

Ker nam NIR spektri prikazujejo tako kemijske kot tudi fizikalne lastnosti celotnega vzorca, pride do prekrivanja absorpcijskih pasov, in je tako težje razbrati spekter, zato za kvalitativno ali kvantitativno analizo spektrov uporabimo različne matematične in statistične metode, da izločimo nepomembne dele spektra (15, 16).

Prednosti in slabosti bližnje infrardeče spektroskopije (NIR)

NIR spektroskopija je inovativna in zmeraj pogosteje uporabljena tehnika v farmacevtski industriji, predvsem zaradi številnih prednosti pred klasičnimi analiznimi metodami. Te prednosti so:

- NIR spektroskopija je okolju prijazna tehnika, saj meritev poteka neposredno, brez predpriprave vzorcev in tako za pripravo vzorcev ne potrebujemo reagentov in topil;
- večina organskih snovi ima signal v NIR območju;
- posebna priprava vzorcev, kot so raztapljanje in razredčevanje ni potrebna, poleg tega pa je sama analitska metoda zelo hitra, saj lahko posname 100 spektrov v 1 sekundi, zato je analiziranje hitro in preprosto;
- energija sevanja svetlobe v bližnjem infrardečem območju je dovolj nizka, da ne povzroči nobene spremembe v materialu (nedestruktivna metoda);
- energija NIR svetlobe je dovolj visoka, da pri NIR reflektanci prodre od 50 do 100 mikronov (odvisno od gostote vzorca) globoko v vzorec brez sevanja, pri tem pa ne pride do popolne absorpcije svetlobe, ampak pride do odboja svetlobe;
- z modeliranjem spektrov lahko določimo koncentracijo posamezne komponente zmesi (kvantitativna analiza);
- nekateri NIR inštrumenti so relativno majhni in prenosni, zato izvajanje analize ni omejeno na eno mesto;
- NIR sevanje omogoča uporabo optičnih vlaken, kar je še posebej pomembno pri analiziranju procesa mešanja, kjer uporabljamo NIR inštrument z brezžičnim prenosom podatkov na računalnik;
- NIR svetloba lahko prehaja skozi steklo in plastiko, zato lahko analiziramo vzorce skozi ovojnino, vpliv ovojnine pa upoštevamo pri izgradnji modelov;

- iz NIR spektrov lahko hitro detektiramo že majhne spremembe v kakovosti vstopnih materialov, kot sta velikost delcev in polimorfizem. S klasičnimi analiznimi metodami je takšno določevanje težje in dolgotrajnejše (15, 17).

Seveda pa ima NIR spektroskopija tudi slabosti, kot so na primer:

- velik vpliv fizikalnih lastnosti (kristalna oblika, nečistote, razlika v porazdeljenosti velikosti delcev) na razlike v spektrih;
- ne moremo določati spojin v majhnih koncentracijah (< 1 %) (15, 17).

Uporaba NIR v farmaciji

Preglednica I: Primerjava uporabe NIR spektroskopije za kvantitativno in kvalitativno analizo.

Kvantitativna analiza	Kvalitativna analiza
Delež vlage v čistih substancah	Identifikacija čistih substanc
Delež vlage v liofiliziranih materialih	Identifikacija zmesi
Povprečna velikost delcev čiste substance	Kvalifikacija čistih substanc
Povprečna velikost delcev v mešanicah/granulatih	Kvalifikacija zmesi
Vsebnost/homogenost zmesi	Identifikacija farmacevtskih oblik
Enakomernost vsebnosti v tabletah/kapsulah	Identifikacija ovojnine
Debelina polimerne obloge	
Napoved časa raztapljanja	
Trdnost tablet	
Razpadni produkti (tablete)	
Polimorfizem	
Kristaliničnost	

1.3. OBDELAVE SPEKTROV

1.3.1. MATEMATIČNA OBDELAVA SPEKTROV

Matematične metode uporabimo, da normaliziramo razpršene podatke, ki nastanejo zaradi motenj v procesu snemanja spektrov (različna velikost delcev, stransko sipanje svetlobe, sprememba postavitve vzorca, tresenje, sprememba temperature) (18, 19).

Med te metode spadajo:

Multiplikativni popravek raztresenih podatkov – MSC (ang. Multiplicative Scatter Correction)

MSC je metoda korekcije razpršenosti podatkov, ki temelji na tem, da spektre vseh vzorcev približa nekemu idealnemu spektru, ki je po navadi povprečje vseh spektrov.

$$x_i = a_i + b_i \bar{x}_j + e_i$$

Kjer je x_i posamezni spekter i , \bar{x}_j je povprečen spekter, in e_i preostali spekter, ki po navadi predstavlja kemične informacije spektra i .

Popravljeni spekter x_i , MSC je izračunan s pomočjo konstant a_i (presečišče) in b_i (naklon) (18, 19).

$$x_{i, MSC} = (x_i - a_i) / b_i$$

Standardna normalna vektorska transformacija – SNV (ang. Standard Normal Variate Transformation)

SNV je še ena metoda za korekcijo razpršenosti podatkov, kot posledice neenakomerno velikih delcev, zaradi katerih pride do razlik v dolžini odbitih žarkov. Transformacija se izvede na vsakem spektru posebej z odštevanjem od povprečja spektrov in normiranjem s standardno deviacijo spektra.

$$X_{ij,SNV} = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^p (X_{ij} - \bar{X}_i)^2}{p-1}}$$

Kjer je X_{ij} , SNV transformiran element originalnega elementa X_{ij} , je povprečje spektra i in p število variacij v spektru (18, 19).

Prvi in drugi odvod

Odvide uporabljamo za izboljšanje ločljivosti med prekrivajočimi absorpcijskimi trakovi, poleg tega pa zmanjšajo odstopanje od bazne linije. S prvim in drugim odvodom minimaliziramo napake na bazni liniji, ki nastanejo zaradi spremembe velikosti delcev, nestabilnosti v napravi (žarnica, detektor) ali pa zaradi nestabilnosti v vzorcu. Ker se z uporabo odvodov poveča tudi šum spektra, uporabimo tudi algoritme za glajenje spektrov, npr. Taylor ali Savitzky Golay glajenje (18, 19).

1.3.2. KALIBRACIJA ZA KVANTITATIVNO ANALIZO

Iz NIR spektrov lahko določimo tudi količinsko sestavo vzorcev, vendar pa za primerjavo spektrov ne moremo uporabiti referenčnih standardov oz. spektrov referenčnih standardov, saj lahko pride do motenj pri meritvah zaradi prisotnosti drugih snovi v vzorcih ali zaradi vpliva fizikalnih parametrov vzorcev. Zato moramo inštrument umeriti s pomočjo druge metode, za kalibracijo pa izberemo čim bolj reprezentativne vzorce iz proizvodnje z različnimi koncentracijami sestavin. Kalibracijski set mora vsebovati od 20 do 50 vzorcev, ki so enakomerno razporejeni po celotnem območju meritev, pri tem pa uporabimo surovine z različnimi fizikalnimi lastnostmi (19).

Metoda najmanjših delnih kvadratov – PLS (Partial Least Squares)

PLS metoda se običajno uporablja, kadar imamo linearno povezavo med spektri in koncentracijami testnih vzorcev. Je najučinkovitejša metoda pri napovedovanju, saj zagotavlja visoko korelacijo med neodvisnimi in odvisnimi spremenljivkami. Pomembna je tudi predpostavka, da napake ne izvirajo le iz referenčnih meritev, ampak poteka sočasno modeliranje tudi na spektrih, zato se v vsakem koraku del podatkov (določenih s faktorjem) iz obeh setov podatkov izloči, na preostalih podatkih pa se metoda ponovi v naslednjem koraku. Posebno pozornost moramo nameniti izboru števila faktorjev (18).

Če ima enačba preveliko število izbranih faktorjev, se model preveč prilega referenčnim podatkom (»overfitting«), tako da se poleg osnovnemu odzivu prilega tudi šumom, zato ima tak model slabo napovedno vrednost. Če pa imamo premajhno število faktorjev, bo model zajel premalo število podatkov, posledica tega pa je visoka napoved napake. Vseeno pa se v praksi nagibamo k uporabi čim manjšega števila faktorjev, saj je tako model bolj robusten (20).

2. NAMEN IN NAČRT DELA

Namen diplomske naloge je ugotoviti uporabnost bližnje infrardeče spektroskopije (NIR) kot analitske metode za določevanje vsebnosti v mešanici po zaključenem mešanju na konkretnem industrijskem mešalniku. Homogenost vsebnosti po končanem mešanju je ključna za kakovost same zmesi in za ustreznost izdelka, ki bo narejen iz te zmesi. Zato je pomembno, da imamo primerno metodo za določanje vsebnosti, ki bo hkrati tudi preprosta in hitra.

Na končno homogenost vsebnosti vpliva več dejavnikov, med njimi tudi možna segregacija zaradi invazivnega vzorčenja s pomočjo vzorčevalne sonde ali/in pa slaba reprezentativnost vzorcev. Zato bi lahko bila bližnja infrardeča spektroskopija (NIR) primernejša analitska metoda za ugotavljanje vsebnosti, saj ne zahteva invazivnega vzorčenja, ampak omogoča t. i. »in-line« meritve skozi merilno okence pokrova mešalnika v vsakem obratu mešalnika, pri tem pa ne posega v sam proces in sestavine zmesi.

Spektri, ki jih NIR inštrument posname med mešanjem, ne prikazujejo samo kemijskih, ampak tudi fizikalne lastnosti, kot so velikost delcev, polimorfizem, rezidualno vlago, druga topila in temperaturo okolja, zato jih ne moremo primerjati s spektri referenčnih standardov substance.

Za izgradnjo NIR modela bomo tako pripravili čim bolj reprezentativne vzorce, to pa bomo dosegli z uporabo surovin različnih serij, da dobimo širok spekter različnih fizikalnih lastnosti. Prvo kalibracijo bomo izvedli na osnovi vzorcev z različnim masnim razmerjem obeh sestavin v zmesi. NIR model bomo potem še dodatno kalibrirali proti drugi referenčni analitski metodi – HPLC analizi.

NIR modele bomo zgradili s pomočjo matematične regresije na osnovi metode najmanjših kvadratov PLS (Partial Least Squares), in sicer tako, da bomo uporabili spektre vseh pripravljenih vzorcev in rezultate referenčne analize. NIR spektre bomo transformirali z

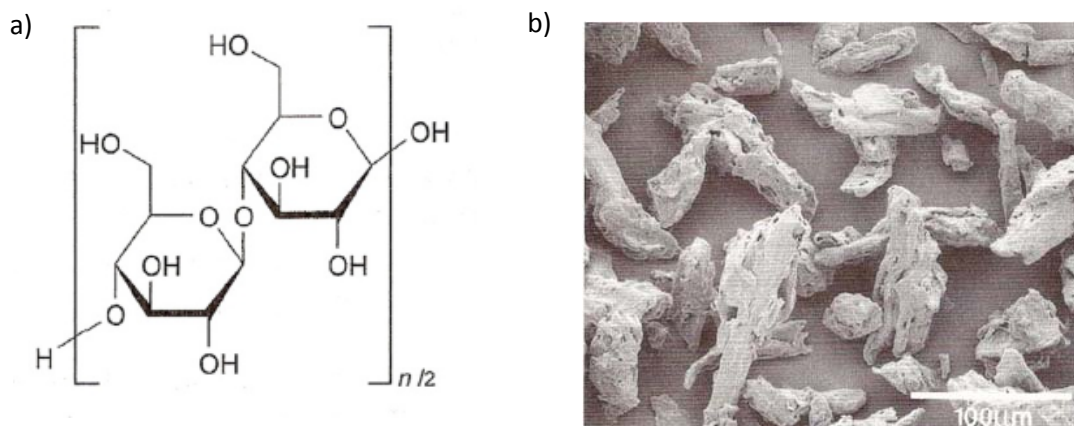
uporabo različnih matematičnih metod, ki vključujejo popravek bazne linije, npr. standardna normalna variacija – SNV, prvi ali drugi odvod, Savitzki-Golay metodo za glajenje funkcije spektrov in podobno. Naredili bomo več različnih modelov, potem pa se bomo na podlagi parametrov, kot so standardna napaka ocene modela (SEC), standardna napaka napovedi modela (SEP) in korelacijski koeficient, odločili za najbolj primernega.

3. MATERIALI IN METODE DE LA

3.1. MATERIALI

3.1.1. MIKROKRISTALNA CELULOZA (MCC)

Mikrokristalna celuloza (MCC) je v farmacevtski industriji široko uporabljena sestavina v različnih farmacevtskih oblikah, kot so tablete, kapsule, granulati ipd. Poleg funkcije veziva se uporablja tudi kot drsljivec in razgrajevalec pri tabletiranju (21).



Slika 16: a) Strukturna formula mikrokrystalne celuloze; b) Mikroskopski posnetek mikrokrystalne celuloze

Mikrokristalna celuloza je prečiščena in delno depolimerizirana celuloza, ki se pojavlja kot bela praškasta snov, brez vonja in okusa, sestavljena iz poroznih delcev različnih velikosti in vsebnosti vlage (21).

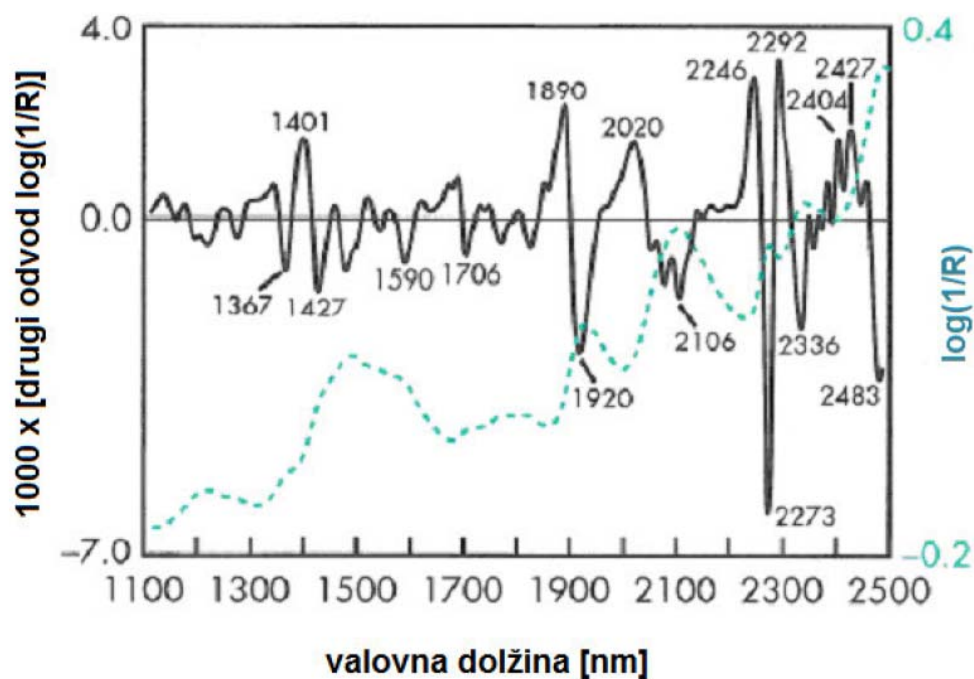
Lastnosti mikrokrystalne celuloze:

Preglednica II: Fizikalne lastnosti mikrokrystalne celuloze.

Nasipna gostota	0,337 g/cm ³
Zbita gostota	0,478 g/cm ³
Prava gostota	1,512–1,668 g/cm ³
Temperatura tališča	260–270 °C
Vsebnost vlage	< 5 %
Velikost delcev	20–200 µm
Topnost	Delno topna v 5 % w/v raztopini NaOH, praktično netopna v vodi, razredčenih kislinah in v večini organskih topil
Specifična površina	1,21–1,30 m ² /g

Mikrokristalna celuloza je kljub higroskopnosti stabilen material, vendar je vseeno potrebno shranjevanje v dobro zaprtih kontejnerjih v hladnem in suhem prostoru. Ni toksična in ne povzroča draženja kože, lahko pa pri proizvodnji farmacevtskih oblik draži oči, zato se priporoča uporaba zaščite za oči, rokavic in zaščitne maske (21).

NIR SPEKTER MIKROKRISTALNE CELULOZE



Slika 17: NIR spekter mikrokristalne celuloze

Uporabljali smo mikrokristalno celulozo s predhodno vsebnostjo vlage manj kot 0,3 %, ali pa smo jo posušili do vsebnosti vlage pod 0,3 %. To pa je pomembno predvsem zato, ker je druga komponenta naših preiskovanih dvokomponentnih zmesi občutljiva na vlago (21).

3.1.2. UČINKOVINA (API)

Uporabljena učinkovina (API) se v farmaciji uporablja v obliki soli, in to predvsem zaradi velike higroskopnosti in hitrega hidrolitskega razpada, zato uporabljamo najmanj higroskopno obliko – kalijevo sol (22, 23).

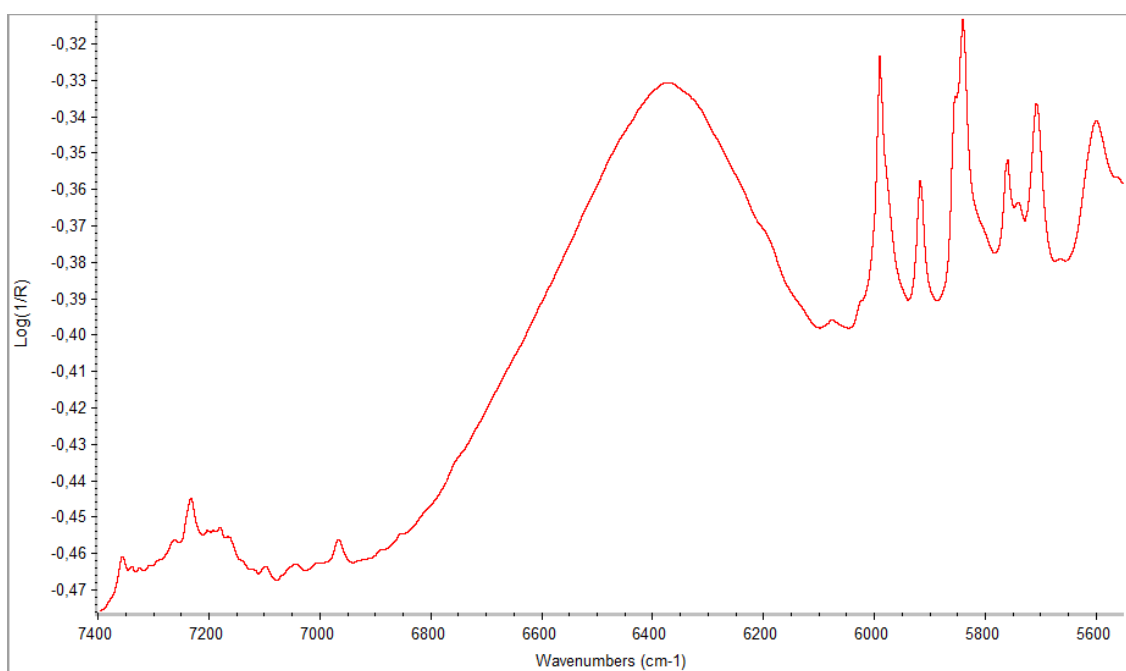
Naša učinkovina se pogosto uporablja v kombinaciji z β -laktamskimi antibiotiki, in jim tako poveča aktivnost in spektralno širino delovanja. Njena funkcija je, da reagira z β -laktamazo, ki jo proizvajajo nekatere bakterije, tako da ireverzibilno acilira serinsko OH skupino v aktivnem mestu s posnemanjem normalnega substrata in deluje kot samomorilni substrat (22, 23).

Njena intrinzična protibakterijska aktivnost je zelo šibka. Raziskujejo pa njeno delovanje kot zaviralke NAALADaze, kar ima potencialne antidepresivne in afrodiziakalne učinke (22, 23).

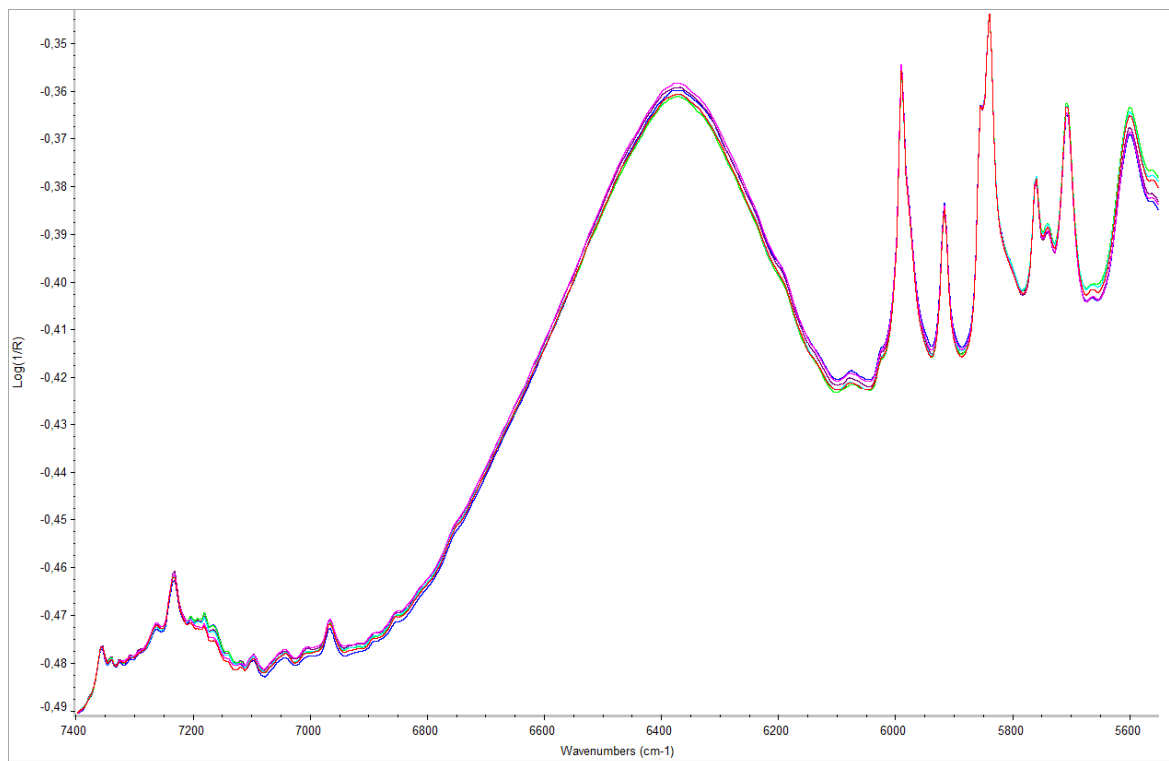
V farmacevtski industriji se jo pridobiva biosintetsko iz aminokislina arginin in sladkorja gliceraldehid-3-fosfat (22, 23).

Je težko topna v alkoholu in lahko topna v vodi, v obliki soli pa se še hitreje raztopi ne glede na PH. Stabilnost v vodnih raztopinah ni dobra, je pa optimalna pri PH 6,0–6,3 (22, 23).

Gre za izjemno zahteven material za rokovanje, saj je izjemno občutljiv na vlago in toploto, zato je priporočljivo, da se shranjuje na hladnem (2–8 °C) z dodatkom sušilnih sredstev, pri sami proizvodnji pa moramo zagotoviti primerno vlažnost prostorov (< 30 %) in primerno temperaturo (do 25 °C) (22, 23).



Slika 16: NIR spekter učinkovine



Slika 17: NIR spektri vzorcev učinkovine šestih različnih serij

3.2. NAPRAVE

3.2.1. NIR INSTRUMENT – Antaris Target Blend Analyzer

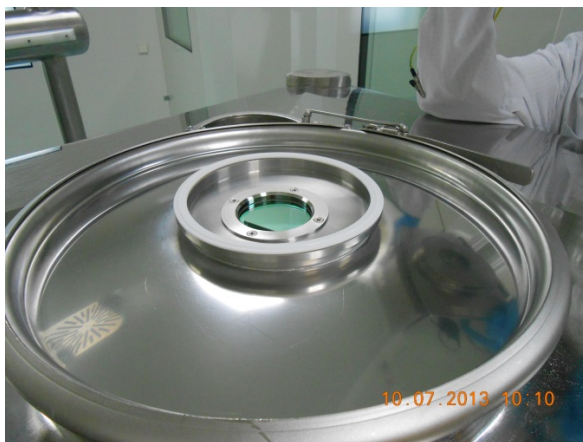
Za testiranje homogenosti vsebnosti smo uporabili NIR inštrument Antaris Target od proizvajalca Thermo Scientific. Ta inštrument je posebej prilagojen za snemanje NIR spektrov med mešanjem, saj nam omogoča izredno hitro snemanje (100 ms za en posnetek), ima visoko spektralno resolucijo (1,6 nm pri 1800 nm) ter ozko spektralno območje (1350 nm–1800 nm oz. 7400 cm^{-1} – 5550 cm^{-1}), kar je še posebej primerno za določanje vsebnosti v vsakem obratu mešanja (24).

Inštrument sestavlja:

- pomožna elektronska plošča (ang. Auxiliary board), ki ima funkcijo, da meri napolnjenost baterije, poleg tega pa zaznava rotacijski položaj mešalnika in tako omogoča pravilen čas snemanja spektrov.

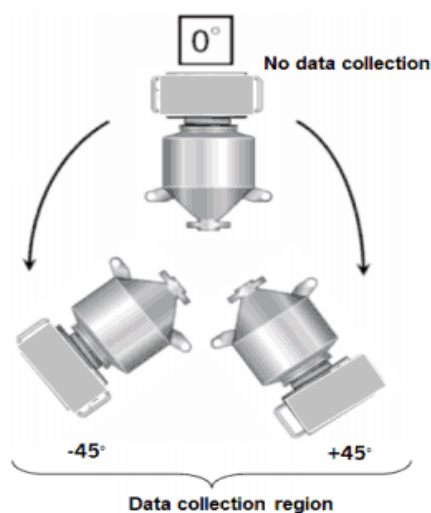
- optična pot omogoča prenos NIR svetlobe po optičnem kablu preko leč in prizm skozi merilno okno, tako da je vsa svetloba razporejena enakomerno po vzorcu. Ko NIR žarek zadane vzorec, se selektivno odbije od materiala, difuzna energija pa se preko leč zbere na detektorju (merjenje difuzne reflektance). Detektor je indijeva galijeva arzenidna fotodioda, ki pretvori energijo v električni signal in ga pošlje do glavne systemske plošče, ta pa pretvori podatek v digitalni signal in povpreči posnetke, da izloči šum. Ti podatki so potem poslani do spektrofotometra, kjer se obdelajo in prenesejo na računalnik kot NIR spektri, ki prikazujejo intenziteto v odvisnosti od valovne dolžine;
- spektrofotometer: srce spektrofotometra je Mikro elektro mehanični sistem (ang. Micro Electro Mechanical System) ali MEMS, ki vsebuje izvor svetlobe. Interferometer pa pretvori NIR svetlobo do primerne valovne dolžine, preden gre naprej do optične poti. En del NIR žarka se preusmeri na modul znotraj spektrofotometra, ki omogoča interno kalibracijo valovne dolžine.
- interna referenca je z zlatom prevlečena ploščica, ki prekrije merilno okno, kadar bi radi posneli spekter ozadja (24).

Njegova brezžična povezava z računalnikom omogoča neovirano vrtenje skupaj z mešalnikom in prenos podatkov o NIR spektrih. Električno energijo tako dobi preko baterije, ki zadošča za 3,5 ure uporabe. Teža inštrumenta je 9,9 kg z dimenzijami 20,75 cm x 35,38 cm x 30,89 cm. Inštrument se preko »tri-klemp priključka« pritrudi na posebej predelan pokrov mešalnika, v katerega je vgrajeno posebno safirno steklo, to je posebej čisto steklo, ki nima signala v NIR območju (24).



Slika 18: Predelan pokrov mešalnika v sredini je vgrajeno safirno steklo, skozi katerega inštrument snema zmesi (slika levo); uporabljeni NIR inštrument (slika desno)

Snemanje spektrov poteka v položaju ko je kontejner obrnjen na glavo oz ko je nagnjen za kot 135° ($+45^\circ$) do kota nagiba 225° (-45°), kot prikazuje slika desno. Inštrument se nastavi tako da glede na hitrost obračanja mešalnika izračuna število posnetkov v vsakem obratu, te posnetke potem povpreči, tako da dobimo v vsakem obratu mešalnika en spekter. Da bi zagotovili čim bolj enakomeren padec oz. pritisk materiala v mešalniku na merilno okno, smo nastavili kote inštrumenta, v katerem posname spektre od 150°



Slika 19: Položaj mešalnika v katerem inštrument lahko posname spekter

($+30^\circ$) do kota nagiba 210° (-30°). V času vrtenja mešalnika med obema kotoma nagiba je NIR inštrument v vsakem obratu posnel 2 spektra in ga povprečil v enega (24).

Računalnik nam med mešanjem prikazuje NIR spektre in standardno deviacijo izračunano iz razlik med spektri. Če v računalniški program vstavimo metodo za kvantitativno analizo, nam bo program poleg spektrov in standardne deviacije prikazoval še koncentracije komponent zmesi v mešalniku.

3.2.2. MEŠALNIK IN KONTEJNER

Preiskovane zmesi so bile pripravljene v kontejner iz nerjavečega jekla s prostornino 1200 L, naša 300 kilogramska dvokomponentna zmes pa je zapolnila cca $\frac{3}{4}$ prostornine kontejnerja. Kontejner smo potem z viličarjem naložili na nosilno ploščo vpenjalnega mešalnika tipa mešalnik s kontejnerjem, ki se vrti s hitrostjo 9,8 obratov na minuto, in tako s prevračanjem materiala premeša – homogenizira mešanico v kontejnerju. Prednost tega kontejnerja je, da lahko končno zmes neposredno prenesemo v kontejnerju do naslednjega proizvodnega procesa, npr. do tabletiranja, kjer kontejner pritrdimo na vrh tabletirke.



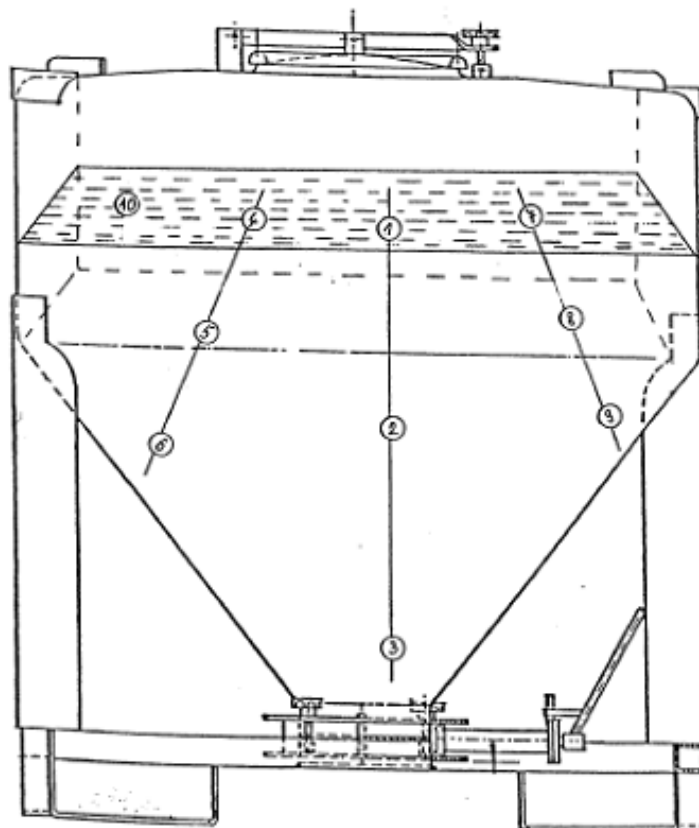
Slika 20: Vpenjalni mešalnik (slika levo); kontejner z nameščenim NIR inštrumentom pritrjen na nosilno ploščo vpenjalnega mešalnika (slika desno)

3.3. METODE

3.3.1. OBSTOJEČA METODA ZA DOLOČEVANJE ENAKOMERNOSTI VSEBNOSTI

Po končanem mešanju zmesi se izvede vzorčenje s sondo na sredini kontejnerja po celotni dolžini, 100 g homogeniziranega vzorca pošljemo v analitiko na določevanje vsebnosti in drugih parametrov. Pri validaciji pa se vzorči s 3 prekatno sondo na 3 mestih, tako vzorčimo na vsakem mestu 3 nivoje (vrh, sredina, dno kontejnerja) in dobimo 9 vzorcev, iz katerih

pripravimo 5 g vzorcev za analitiko. Ostanke teh 9 vzorcev združimo in homogeniziramo, tako da dobimo vzorec 10, katerega pošljemo v analitiko na dodatne analize. Vzorci se potem v analitiki testirajo s pomočjo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC).



Slika 21: Shema vzorčevalnih mest za validacijo, pri rednih serijah se za potrebe HPLC analize vzorci na sredini po celotni dolžini s sondo z enim vzorčevalnim mestom na dnu sonde

HPLC metoda je primerna in dobra za identifikacijo in kvantitativno analizo, vendar je problem pri vzorčenju, ker lahko povzroči segregacijo in s tem slabo reprezentativnost vzorca. Poleg tega pa je HPLC metoda časovno zamudna, saj je poleg vzorčenja potrebna tudi predpriprava vzorca (tehtanje, raztapljanje, redčenje ...) v laboratoriju z izkušenimi analitiki, sam vzorec pa se pri testiranju uniči, tako da testa na istem vzorcu ni mogoče več ponoviti (25).

Zato je bil naš namen ugotoviti uporabnost alternativne metode t. j. bližnje infrardeče spektroskopije (NIR), ki nam s pomočjo posebnega brezžičnega NIR inštrumenta omogoča

kvantitativno analizo brez predhodnega invazivnega vzorčenja, prav tako pa je možno spremljati spreminjanje homogenosti v času procesa mešanja, saj NIR inštrument posname spekter v vsakem obratu mešalnika.

3.3.2. NIR METODA

Priprava standardnih vzorcev za izgradnjo kalibracijske krivulje

Ker imajo uporabljene substance različnih serij različne fizikalne lastnosti, smo se odločili, da uporabimo 6 različnih kontrolnih števil učinkovine (API). K trem serijam smo potem v različnih razmerjih dodali predhodno posušeno mikrokristalno celulozo, k drugim trem serijam pa mikrokristalno celulozo z različno vlago. Način priprave standardnih vzorcev je prikazan v preglednici III.

Vzorci s skupno maso 0,5 kg smo natehtali v PE vrečke dimenzije 23 cm x 34 cm po shemi prikazani v tabeli, vrečko smo nato zaprli, tako da smo vanjo zajeli čim več zraka, jo zavrteli ter 2 minuti intenzivno stresali v vse smeri, ter tako premešali oz. homogenizirali vzorce. Na koncu smo vrečko nepredušno zaprli in jo označili z navedeno oznako iz tabele. Na enak način smo pripravili vseh 51 vzorcev.

Preglednica III: Priprava standardnih vzorcev zmesi v različnih razmerjih API : MCC

Mešanica Standarda	API (U) batch1 : MCC (A) batch1		API (U) batch2 : MCC (A) batch2		API (U) batch3 : MCC(A) batch3	
	Količina vzorca	Oznaka vzorca	Količina vzorca	Oznaka vzorca	Količina vzorca	Oznaka vzorca
0,1 : 0,9	50 g A 450 g U	A1	50 g A 450 g U	B1	50 g A 450 g U	C1
0,2 : 0,8	100 g A 400 g U	A2	100 g A 400 g U	B2	100 g A 400 g U	C2
0,3 : 0,7	150 g A 350 g U	A3	150 g A 350 g U	B3	150 g A 350 g U	C3
0,4 : 0,6	200 g A 300 g U	A4	200 g A 300 g U	B4	200 g A 300 g U	C4

0,5 : 0,5	250 g A 250 g U	A5	250 g A 250 g U	B5	250 g A 250 g U	C5
0,6 : 0,4	300 g A 200 g U	A6	300 g A 200 g U	B6	300 g A 200 g U	C6
0,7 : 0,3	350 g A 150 g U	A7	350 g A 150 g U	B7	350 g A 150 g U	C7
0,8 : 0,2	400 kg A 100 kg U	A8	400 g A 100 g U	B8	400 g A 100 g U	C8
0,9 : 0,1	450 g A 50 U	A9	450 g A 50 U	B9	450 g A 50 U	C9

Mešanica Standarda	API (U) batch4 : MCC (A) batch1		API (U) batch5 : MCC (A) batch2		API (U) batch6 : MCC (A) batch3	
	Količina vzorca	Oznaka vzorca	Količina vzorca	Oznaka vzorca	Količina vzorca	Oznaka vzorca
0,15 : 0,85	75 g A 425 g U	D1	75 g A 425 g U	E1	75 g A 425 g U	G1
0,25 : 0,75	125 g A 375 g U	D2	125 g A 375 g U	E2	125 g A 375 g U	G2
0,35 : 0,65	175 g A 325 g U	D3	175 g A 325 g U	E3	175 g A 325 g U	G3
0,45 : 0,55	225 g A 275 g U	D4	225 g A 275 g U	E4	225 g A 275 g U	G4
0,55 : 0,45	275 g A 225 g U	D5	275 g A 225 g U	E5	275 g A 225 g U	G5
0,65 : 0,35	325 g A 175 g U	D6	325 g A 175 g U	E6	325 g A 175 g U	G6
0,75 : 0,25	375 g A 125 g U	D7	375 g A 125 g U	E7	375 g A 125 g U	G7
0,85 : 0,15	425 g A 75 g U	D8	425 g A 75 g U	E8	425 g A 75 g U	G8

Snemanje vzorcev z NIR inštrumentom

Na pripravljenih standardnih vzorcih smo posneli NIR spektre, pri tem pa smo pazili, da smo čim bolj ponazorili optično pot in pogoje, ki jih bo imel material med mešanjem v mešalniku. Ker bo med snemanjem spektrov med mešanjem NIR inštrument pritrjen na pokrov mešalnika, ki ima vgrajeno safirno steklo, smo tudi za snemanje standardnih vzorcev na NIR inštrument pritrčili pokrov mešalnika, sam inštrument pa je bil medtem obrnjen na glavo, tako da je bilo merilno okno obrnjeno navzgor.



Slika 22: Navzgor obrnjen NIR inštrument s pritrjenim predelanim pokrovom (slika levo); kovinski valj postavljen na pokrov mešalnika tako, da je merilno okno v sredini valja (slika desno)

Upoštevali smo tudi tlak materiala v mešalniku na merilno okno, zato smo na pokrov mešalnika položili kovinski valj s premerom 10 cm, tako da je bilo merilno okno oz. vgrajeno safirno steklo v njegovi sredini. Standardni vzorec smo še enkrat pretresli v vrečki, potem pa ga stresli v valj in na vrh materiala položili okroglo ploščo z ravno površino in jo dodatno obtežili z 2 kg utežjo. Tako smo ponazorili silo pritiska celotne serije mešanice (300 kg) na merilno okence pri mešanju v mešalniku, saj imata tako tlak kot gostota delcev ob merilnem oknu vpliv na NIR spektre.



Slika 23: Prikaz snemanja standardnih vzorcev za izgradnjo kalibracijske krivulje za snemanje spektrov na mešalniku: vzorec v valju obtežen z 2 kg utežjo

S predhodno ogretim inštrumentom (inštrument vklopljen vsaj 10 minut) posnamemo najprej spekter ozadja (internega zlata) in tako izvedemo redno dnevno kalibracijo NIR inštrumenta. Potem posnamemo še spekter našega vzorca. Spekter označimo z enako oznako, kot je bil označen standardni vzorec. Postopek ponovimo na vseh 51 standardnih vzorcih.

Na koncu smo vzeli še iz vsakega standardnega vzorca cca 1 g mešanice za potrebe HPLC analize za določitev vsebnosti učinkovine. HPLC je naša referenčna metoda za kalibracijsko krivuljo, iz njenih rezultatov smo tudi ocenili napako naše referenčne metode. Rezultati HPLC analize za vsebnost učinkovine v vzorcih zmesi učinkovine in mikrokristalne celuloze so predstavljeni preglednici IV.

Preglednica IV: Rezultati HPLC analize za vsebnost učinkovine v standardnih vzorcih

Koncentracija API (%)	A (%)	B (%)	C (%)	Koncentracija API (%)	D (%)	E (%)	G (%)
90%	74,4%	74,5%	75,4%	85%	71,4%	71,2%	72,3%
80%	66,0%	66,7%	67,1%	75%	63,0%	62,4%	63,5%
70%	57,2%	56,6%	58,6%	65%	54,1%	53,9%	54,1%
60%	48,6%	49,9%	50,6%	55%	45,3%	45,8%	45,3%
50%	40,1%	41,2%	42,0%	45%	37,8%	37,3%	37,3%
40%	33,4%	32,7%	32,9%	35%	28,8%	29,2%	28,8%
30%	23,7%	24,6%	25,1%	25%	20,5%	20,6%	20,6%
20%	17,2%	16,4%	16,2%	15%	12,2%	12,3%	12,3%
10%	10,1%	8,1%	8,2%				

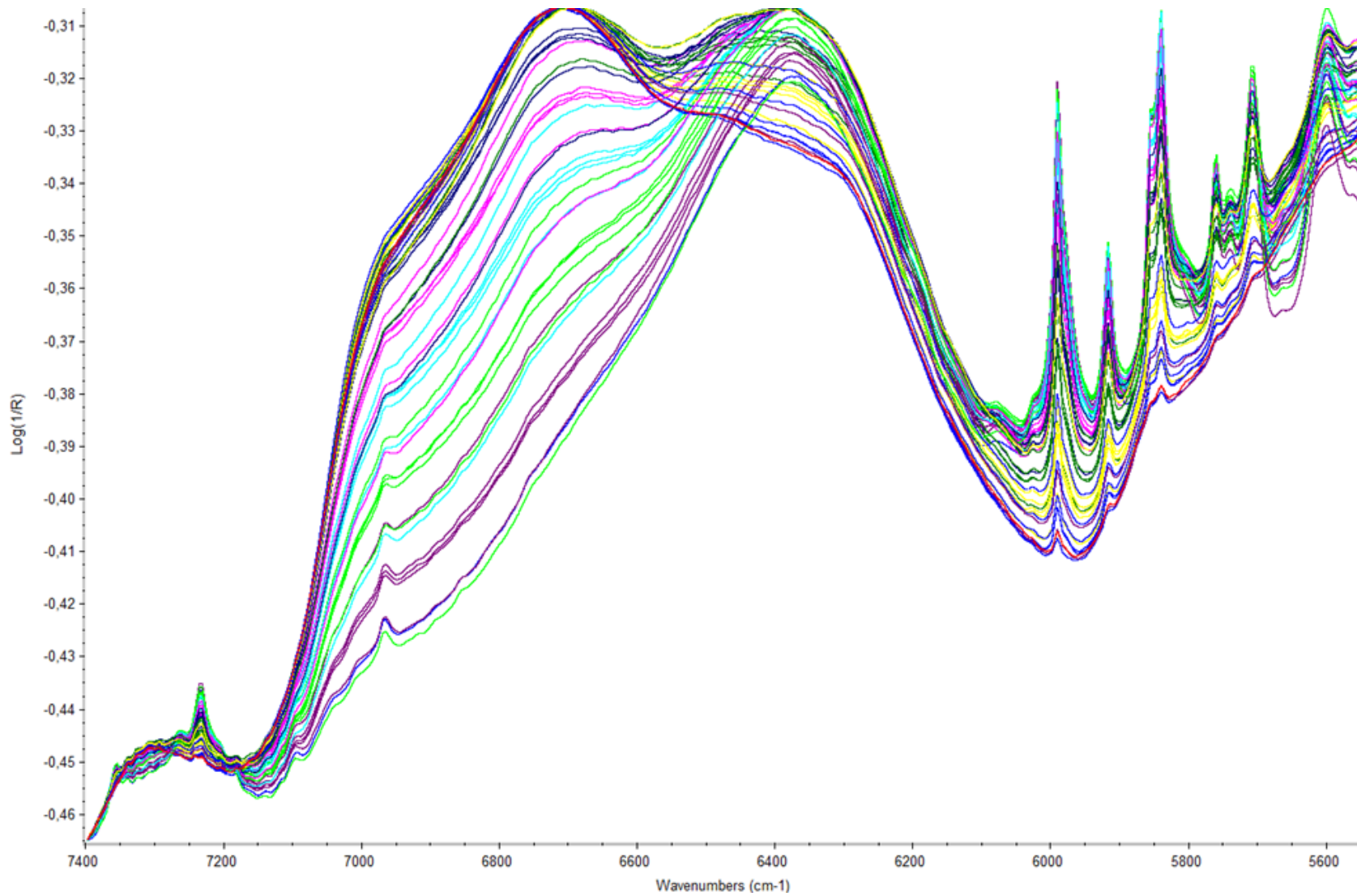
Preverili smo tudi razlike med rezultati vsebnosti učinkovine v standardnih vzorcih iz HPLC analize in rezultati, izmerjenimi z NIR inštrumentom. Podatke smo predstavili v preglednici V.

Preglednica V: Primerjava vsebnosti učinkovine v standardnih vzorcih izmerjene s HPLC in z NIR inštrumentom

Vzorec	HPLC (%)	NIR (%)	Vzorec	HPLC (%)	NIR (%)	Vzorec	HPLC (%)	NIR (%)
A1	74	74	B1	74	74	C1	75	75
A2	66	67	B2	67	67	C2	67	67
A3	57	58	B3	57	57	C3	59	59
A4	49	49	B4	50	50	C4	51	50
A5	40	41	B5	41	41	C5	42	41
A6	33	33	B6	33	33	C6	33	32
A7	24	23	B7	25	24	C7	25	24
A8	17	17	B8	16	18	C8	16	15
A9	10	10	B9	8	9	C9	8	8

Vzorec	HPLC (%)	NIR (%)	Vzorec	HPLC (%)	NIR (%)	Vzorec	HPLC (%)	NIR (%)
D1	71	71	E1	71	71	G1	72	72
D2	63	63	E2	62	62	G2	64	63
D3	54	54	E3	54	54	G3	54	55
D4	45	45	E4	46	46	G4	45	45
D5	38	38	E5	37	37	G5	37	38
D6	29	29	E6	29	29	G6	29	28
D7	21	22	E7	21	21	G7	21	21
D8	12	14	E8	12	14	G8	12	13

Vse posnete spektre standardnih vzorcev za model za snemanje na mešanju smo združili v en graf (slika 24) in tako videli, v katerih valovnih območjih spektra prihaja do največjih razlik zaradi različne sestave vzorca. Na spodnjem grafu (slika 24) se lepo vidi, kako so po 3 krivulje z isto vsebnostjo aktivne učinkovine blizu skupaj.



Slika 24: Graf spektrov standardnih vzorcev za izgradnjo modela za snemanje ob mešanju

Obdelava spektrov in izdelava kalibracijske krivulje

Za izgradnjo kalibracijske krivulje smo uporabili metodo najmanjših delnih kvadratov (PLS), s katero izločimo nelinearnost zaradi različne površine delcev. Poleg tega pa smo poskušali ugotoviti, katere dodatne matematične obdelave nam dajo najlepšo kalibracijsko krivuljo in kvantitativne rezultate. Tako smo poizkusili različne kombinacije uporabe standardne normalne vektorske transformacije (SNV) in multiplikativnega popravka raztresenih podatkov (MSC) s prvim odvodom, drugim odvodom ali s čistimi spektri, pri tem pa smo opazovali spreminjanje korelacijskega faktorja, standardne napake ocene modela (SEC), standardne napake napovedi modela (SEP), razliko med SEC in SEP ter število uporabljenih faktorjev. Manjše kot so vrednosti SEP, SEC, SEC-SEP in število faktorjev, bolj je model robusten.

Preglednica VI: Primerjava SNV in MSC metode v kombinaciji s prvim odvodom, drugim odvodom in čistimi spektri

	SEC	SEP	SEC-SEP	Korelacijski koeficient	Faktorji
SNV+ 1odvod	0,00476	0,0109	0,00614	0,9978	4
SNV+ 2odvod	0,00712	0,0122	0,00508	0,9975	3
SNV+čisti spektri	0,00627	0,0113	0,00503	0,9980	7
MSC+ 1odvod	0,00633	0,00803	0,0017	0,9988	3
MSC+ 2odvod	0,00616	0,0105	0,00434	0,9981	3
MSC+čisti spektri	0,00626	0,0102	0,00394	0,9980	6

SEC – Standardna napaka ocene modela podaja razliko med izračunom modela in dejansko vrednostjo (rezultati referenčne analitske metode).

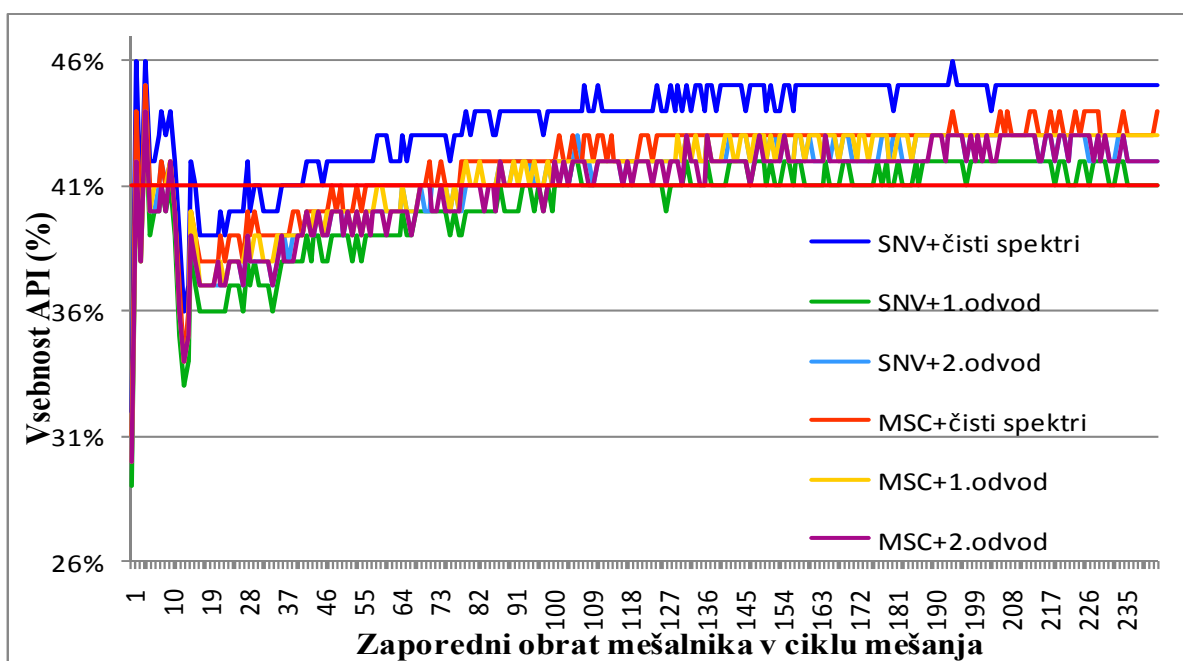
SEP – Standardna napaka napovedi modela je parameter, ki nam pove, kako točne so napovedane vrednosti našega modela. Manjša je napaka napovedi modela, večja je sposobnost napovedovanja modela.

Korelacijski koeficient modela podaja ujemanje napovednih vrednosti modela z vrednostmi referenčne analitske metode. Maksimalna vrednost tega koeficienta je 1 in pomeni najboljšo možno ujemanje, medtem ko vrednosti tega koeficienta med 0,8 in 1 pomenijo zadovoljivo ujemanje.

Kalibracijski faktor je število spektralnih podatkov, ki se v postopku kalibracije izločijo, na ostalih podatkih pa se postopek ponovi. Z določitvijo faktorjev postaja razlika med dejansko in med napovedano kvantitativno vrednostjo vse manjša.

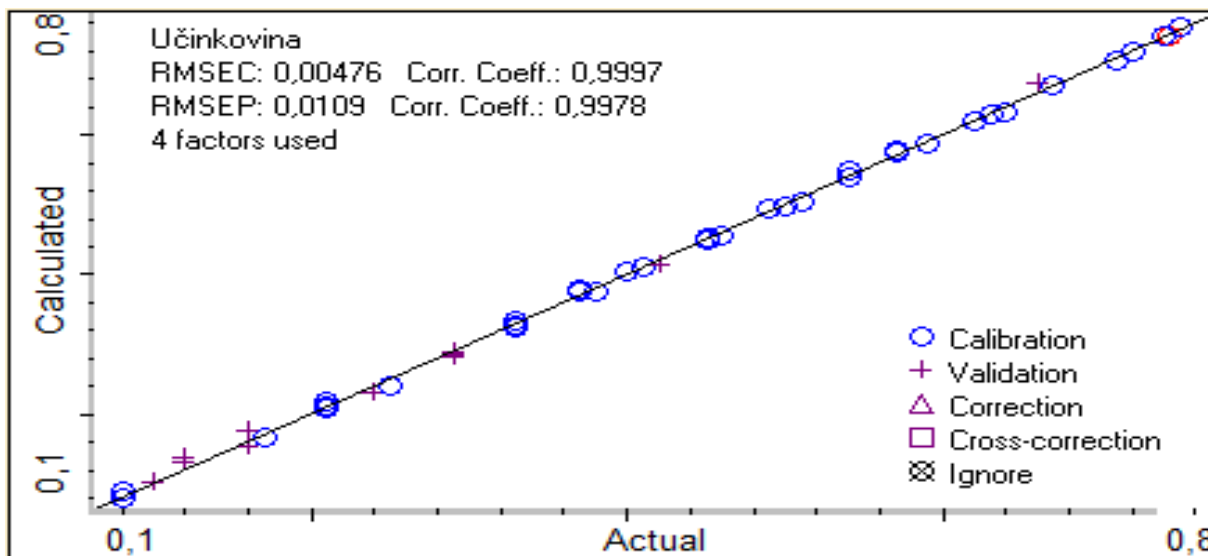
Preden smo se odločili za metodo, smo želeli še preveriti, katera nam po kvantitativni obdelavi spektrov da najbolj primerljive rezultate s pričakovano vsebnostjo oz. z rezultati referenčne HPLC analize. Izbrali smo eno zmes, ki ima pričakovano vsebnost 41 % učinkovine, referenčna HPLC analiza pa je dala rezultat 40,5 % učinkovine.

Iz spodnjega grafa (slika 25) lahko vidimo, da je najbolj robustna metoda tista z uporabo SNV transformacije in prvega odvoda, saj so rezultati dobljene vsebnosti po kvantitativni obdelavi spektrov najbolj primerljivi s podatki iz referenčne HPLC analize. Poleg tega ima ta metoda tudi nizko število uporabljenih faktorjev, majhno standardno napako napovedi modela (SEP), majhno standardno napako ocene modela (SEC) ter majhno razliko med SEC in SEP.



Slika 25: Primerjava kvantitativnih podatkov ene zmesi, pridobljenih z uporabo različnih metod

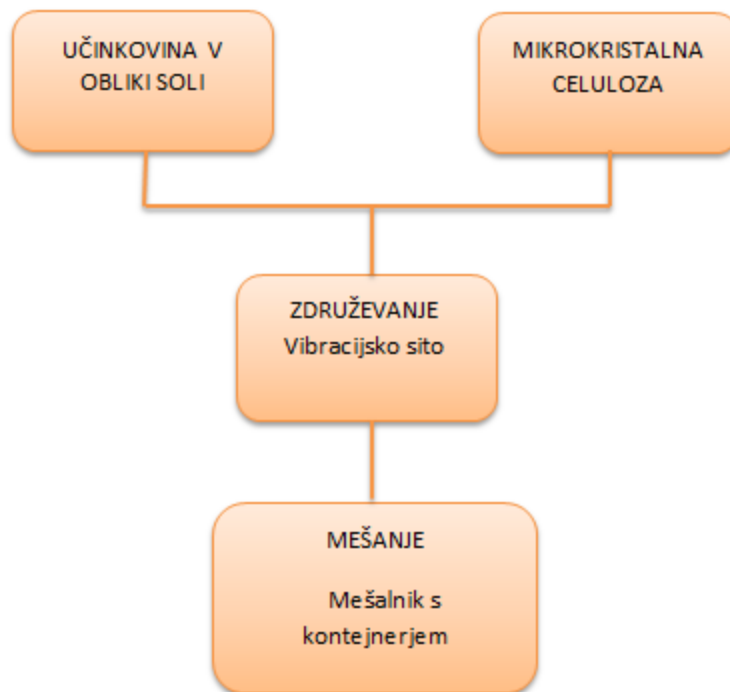
Z izbrano metodo (SNV + 1. odvod) smo na podlagi 51 spektrov standardnih vzorcev in pripadajočih rezultatov referenčne analize izdelali kalibracijsko krivuljo (slika 26). Računalniški program je med 51 standardnimi vzorci izbral 2, 7, 9, 15, 17, 23, 25, 31, 33, 41, 47 in 50 vzorec za izvedbo interne validacije.



Slika 26: Izdelana kalibracijska krivulja z izbrano metodo SNV in prvi odvod

4. REZULTATI IN RAZPRAVA

Pred začetkom merjenja je bilo potrebno pripraviti zmes po spodnjem tehnološkem postopku.



Slika 27: Tehnološki postopek priprave zmesi

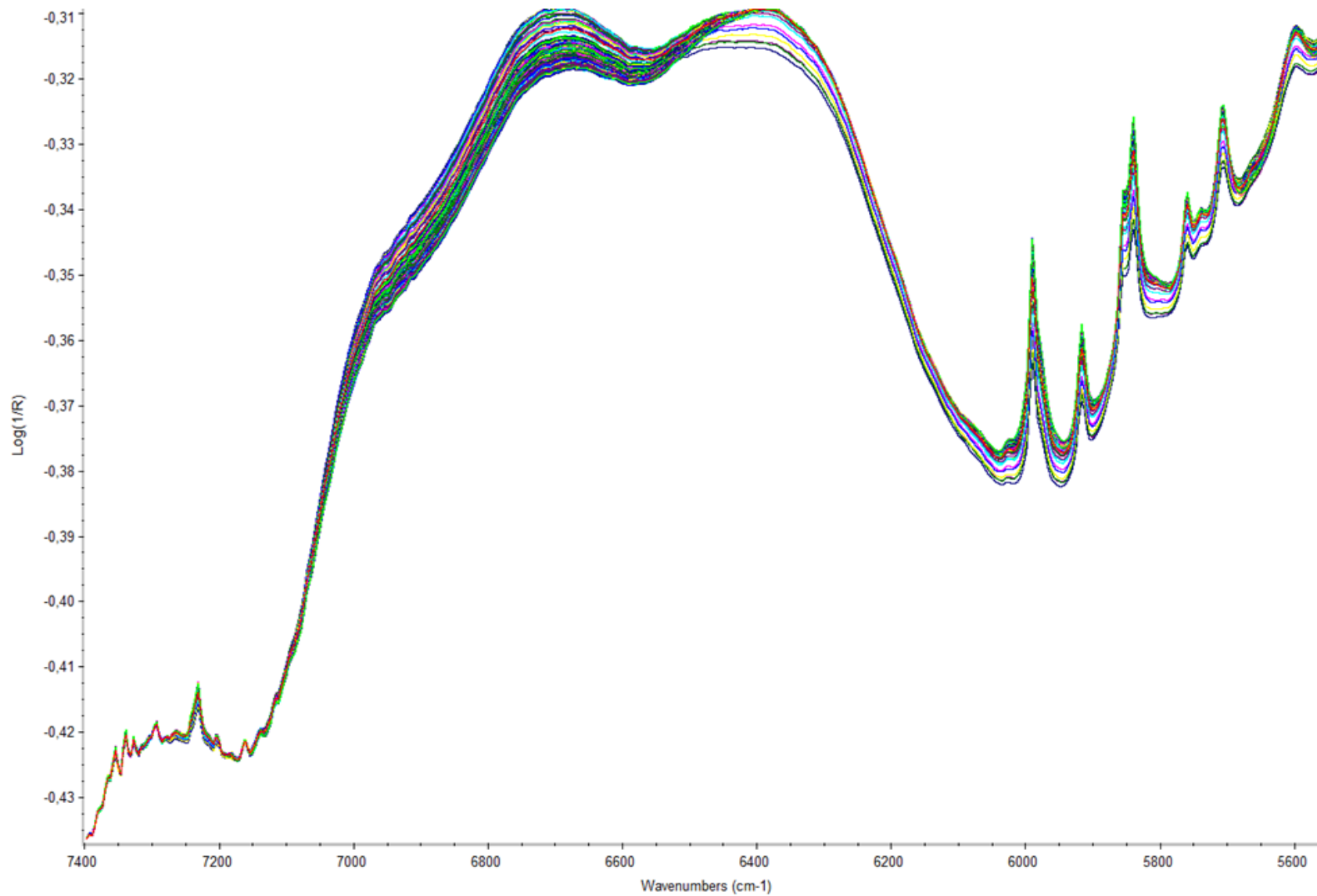
Priprava zmesi se je začela s tehtanjem surovin, tako da smo najprej natehtali toliko učinkovine v obliki soli, da je vsebnost učinkovine v obliki kisline znašala 41 % glede na končno količino zmesi, t. j. 303 kg, preostanek do končne mase pa smo natehtali mikrokrystalno celulozo (MCC). Surovine smo potem preko vibracijskega sita združili neposredno v kontejner po principu izmeničnega polnjenja, tako da smo začeli z učinkovino, potem pa smo nadaljevali z MCC. To ponavljamo, dokler ne zmanjka surovin. Kontejner smo potem zaprli s pokrovom in ga pripeljali v prostor z mešalnikom, kjer smo obstoječi pokrov zamenjali s predelanim pokrovom, prilagojenim za NIR snemanje in previdno namestili NIR inštrument. Kontejner smo nato namestili na vpenjalnik mešalnika, kjer se je mešal 25 minut. Med mešanjem je NIR inštrument v vsakem obratu mešalnika posnel 2-krat po 100 posnetkov in jih povprečil v en skupen spekter ter ga preko brezžične povezave poslal na računalnik.

Na računalniku smo lahko tako spremljali spreminjanje spektrov, spreminjanje površine pod krivuljami spektrov in spreminjanje standardne deviacije med spektri.

4.1. SPREMLJANJE NIR SPEKTROV MED MEŠANJEM

Med mešanjem je NIR inštrument posnel spekter v vsakem obratu mešanja in ga preko brezžične povezave poslal na računalnik, kjer so se nam sproti prikazovali v računalniškem programu. Mešalnik se je vrtel s hitrostjo 9,8 obratov na minuto in pri tem v 25 minutah posnel cca 243 spektrov. Vse spektre smo potem združili na en graf, iz katerega je razvidno, da je vsak posneti spekter unikaten glede na pozicijo in magnitudo. Spektralno območje na x osi predstavlja valovno dolžino in se razteza od 7400 cm^{-1} do 5550 cm^{-1} . Y os pa predstavlja absorbanco, ki jo program izračuna s pomočjo reflektance (R) in enačbe $\log(1/R)$. S pomočjo NIR difuzne reflektance merimo tako absorpcijo kot tudi sipanje svetlobe, to pa nam omogoča detekcijo kemijskih in fizikalnih lastnosti.

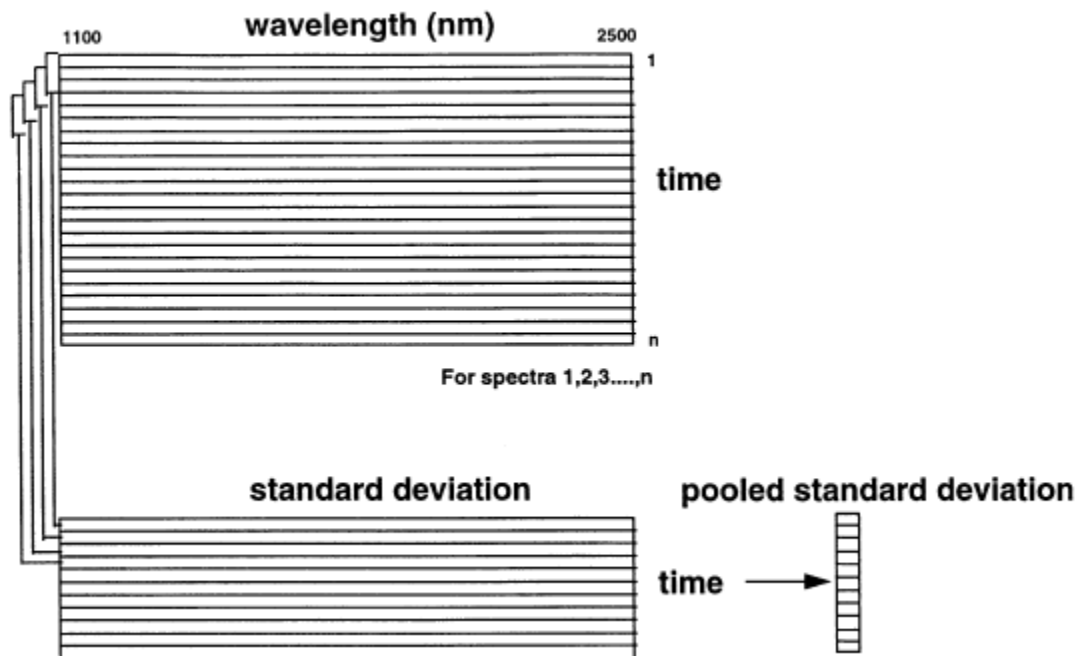
Iz spodnjega grafa (slika 28) lahko vidimo tudi, v katerih delih spektrov prihaja do največjih razlik med spektri.



Slika 28: Čisti NIR spektri posneti z NIR inštrumentom med mešanjem ene zmesi

4.2. SPREMLJANJE STANDARDNE DEVIACIJE RAZLIK MED NIR SPEKTRI V PROCESU MEŠANJA

Pri snemanju NIR spektrov med mešanjem smo se najprej osredotočili na spremljanje standardne deviacije razlik NIR spektrov med mešanjem. Krivulja standardne deviacije razlik med NIR spektri med mešanjem pada proti nič, ko dosežemo homogenost, pa se krivulja umiri in preneha padati. Pravzaprav je bila uporabljena metoda za identifikacijo končne točke mešanja, ki se imenuje premikajoči blok standardne deviacije (Moving block of standard deviation, MBSD). Ta tehnika vsebuje računanje standardne deviacije pri vsaki valovni dolžini spektra in v določenem številu meritev, ki se imenujejo velikost okna (26).



Slika 29: Premikajoči blok standardne deviacije (MBSD)

V našem primeru smo nastavili velikost za izračun MBSD na 6 meritev, tako je program računal standardno deviacijo razlik med NIR spektri pri vsakem valovnem številu spektra in naredil povprečje za 1–6 meritve za vsako valovno dolžino posebej, potem pa se je okno premaknilo za eno mesto in je program izračunal povprečje standardne deviacije 2–7 meritve

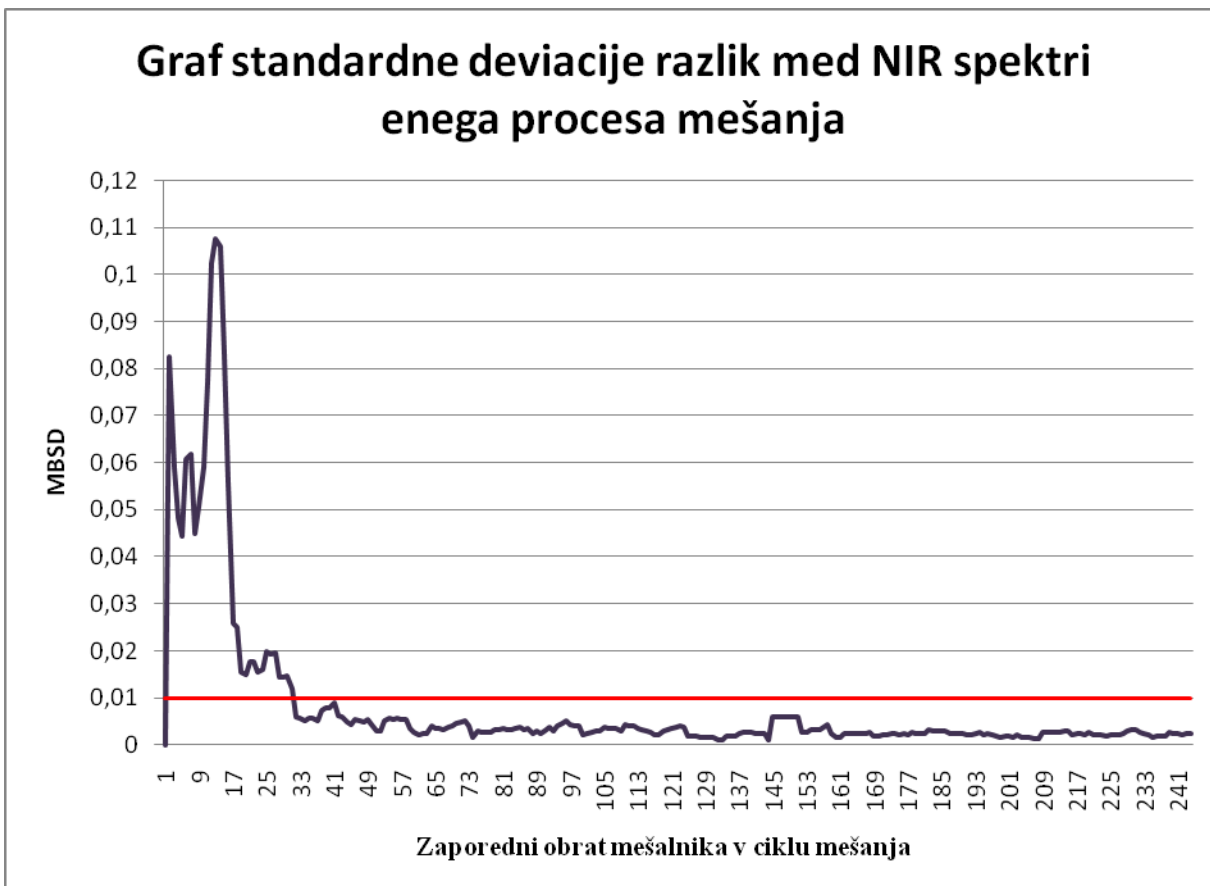
za vsako valovno dolžino posebej in tako dalje. V naslednjem koraku pa je program izračunal še skupno povprečno standardno deviacijo razlik med NIR spektri za vse valovne dolžine skupaj, torej za celoten spekter 1–6 meritve, 2–7 meritve, 3–8 meritve itd. Tako smo na koncu dobili en podatek za standardno deviacijo za vsak posneti spekter.

Med mešanjem je računalniški program iz posnetih spektrov sproti izračunaval standardne deviacije razlik med NIR spektri, tako smo lahko že med samim mešanjem spremljali padanje standardne deviacije do točke, kjer se je krivulja umirila. Ta točka nam je dala podatek o končni točki mešanja oz. o času, ki je bil potreben, da se je zmes premešala do ustrezne homogenosti vsebnosti učinkovine.

Po končanem mešanju smo izmerjene standardne deviacije razlik med spektri zbrali v tabeli (preglednica VII) in iz podatkov ponovno izrisali graf (slika 30).

Preglednica VII: Standardne deviacije razlik med NIR spektri izračunane v vsakem obratu mešalnika (Št.) v ciklu mešanja

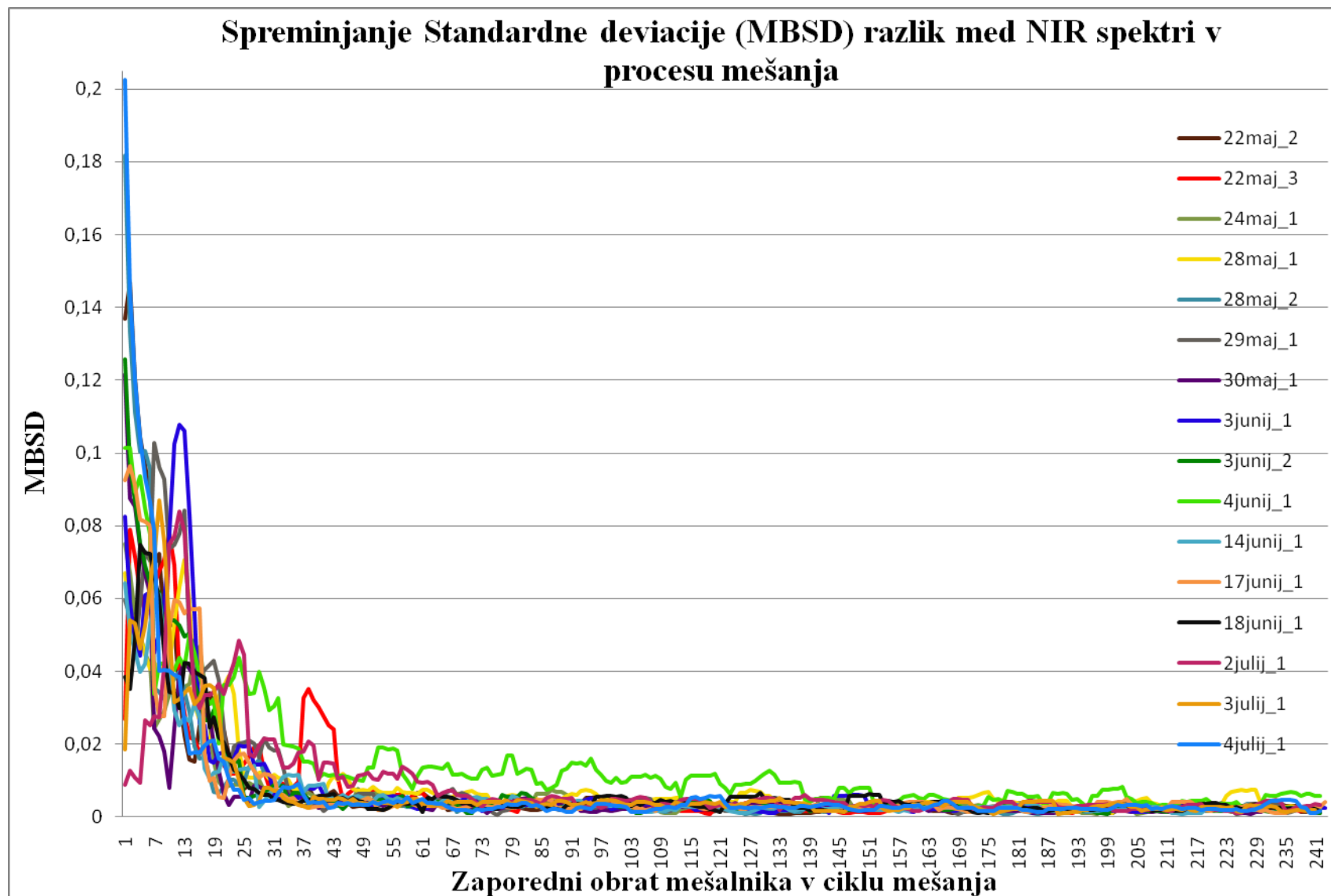
Št.	SD	Št.	SD	Št.	SD	Št.	SD	Št.	SD	Št.	SD
1	0.00000	42	0.00619	83	0.00330	124	0.00363	165	0.00227	206	0.00145
2	0.08243	43	0.00591	84	0.00361	125	0.00193	166	0.00241	207	0.00141
3	0.05886	44	0.00479	85	0.00381	126	0.00192	167	0.00241	208	0.00142
4	0.04813	45	0.00418	86	0.00319	127	0.00188	168	0.00267	209	0.00269
5	0.04437	46	0.00526	87	0.00340	128	0.00146	169	0.00172	210	0.00274
6	0.06080	47	0.00521	88	0.00245	129	0.00158	170	0.00195	211	0.00272
7	0.06172	48	0.00475	89	0.00296	130	0.00147	171	0.00210	212	0.00278
8	0.04502	49	0.00529	90	0.00238	131	0.00148	172	0.00213	213	0.00266
9	0.05060	50	0.00423	91	0.00291	132	0.00101	173	0.00239	214	0.00291
10	0.05894	51	0.00286	92	0.00386	133	0.00104	174	0.00229	215	0.00295
11	0.07745	52	0.00290	93	0.00305	134	0.00191	175	0.00216	216	0.00215
12	0.10242	53	0.00509	94	0.00409	135	0.00197	176	0.00239	217	0.00227
13	0.10762	54	0.00576	95	0.00459	136	0.00193	177	0.00205	218	0.00232
14	0.10605	55	0.00547	96	0.00509	137	0.00233	178	0.00254	219	0.00221
15	0.08311	56	0.00570	97	0.00422	138	0.00266	179	0.00240	220	0.00277
16	0.05572	57	0.00551	98	0.00411	139	0.00275	180	0.00252	221	0.00221
17	0.02578	58	0.00545	99	0.00414	140	0.00273	181	0.00252	222	0.00215
18	0.02514	59	0.00342	100	0.00215	141	0.00244	182	0.00320	223	0.00214
19	0.01553	60	0.00261	101	0.00250	142	0.00232	183	0.00299	224	0.00196
20	0.01487	61	0.00219	102	0.00266	143	0.00232	184	0.00285	225	0.00219
21	0.01751	62	0.00239	103	0.00305	144	0.00096	185	0.00286	226	0.00217
22	0.01776	63	0.00250	104	0.00299	145	0.00592	186	0.00303	227	0.00222
23	0.01536	64	0.00394	105	0.00362	146	0.00588	187	0.00230	228	0.00230
24	0.01591	65	0.00352	106	0.00346	147	0.00584	188	0.00231	229	0.00302
25	0.01974	66	0.00345	107	0.00347	148	0.00596	189	0.00225	230	0.00314
26	0.01937	67	0.00322	108	0.00358	149	0.00604	190	0.00243	231	0.00309
27	0.01950	68	0.00369	109	0.00283	150	0.00594	191	0.00217	232	0.00261
28	0.01428	69	0.00403	110	0.00436	151	0.00580	192	0.00210	233	0.00237
29	0.01445	70	0.00461	111	0.00413	152	0.00261	193	0.00248	234	0.00215
30	0.01477	71	0.00492	112	0.00410	153	0.00269	194	0.00253	235	0.00156
31	0.01194	72	0.00499	113	0.00344	154	0.00319	195	0.00211	236	0.00180
32	0.00593	73	0.00398	114	0.00314	155	0.00312	196	0.00246	237	0.00181
33	0.00570	74	0.00156	115	0.00295	156	0.00329	197	0.00203	238	0.00183
34	0.00501	75	0.00303	116	0.00277	157	0.00365	198	0.00181	239	0.00254
35	0.00572	76	0.00261	117	0.00198	158	0.00416	199	0.00154	240	0.00240
36	0.00577	77	0.00261	118	0.00207	159	0.00250	200	0.00175	241	0.00243
37	0.00516	78	0.00267	119	0.00280	160	0.00164	201	0.00174	242	0.00224
38	0.00725	79	0.00307	120	0.00320	161	0.00146	202	0.00165	243	0.00244
39	0.00789	80	0.00311	121	0.00336	162	0.00235	203	0.00202	244	0.00242
40	0.00775	81	0.00347	122	0.00371	163	0.00242	204	0.00148	245	0.00145
41	0.00893	82	0.00329	123	0.00398	164	0.00242	205	0.00150		



Slika 30: Krivulja spreminjanja standardne deviacije (MBSD) razlik med NIR spektri v procesu mešanja

Iz grafa 30 lahko vidimo, da standardna deviacija hitro padla pod vrednost 0,01, in sicer že pri 33 obratu mešalnika. Krivulja je še naprej padala do cca 161 obrata mešalnika, kjer se je umirila. Ti podatki se nanašajo na eno serijo, podatki drugih serij se razlikujejo, zato smo krivulje vseh standardnih deviacij razlik med NIR spektri združili v en graf, da smo lažje primerjali, če so med njimi kakšne significantne razlik.

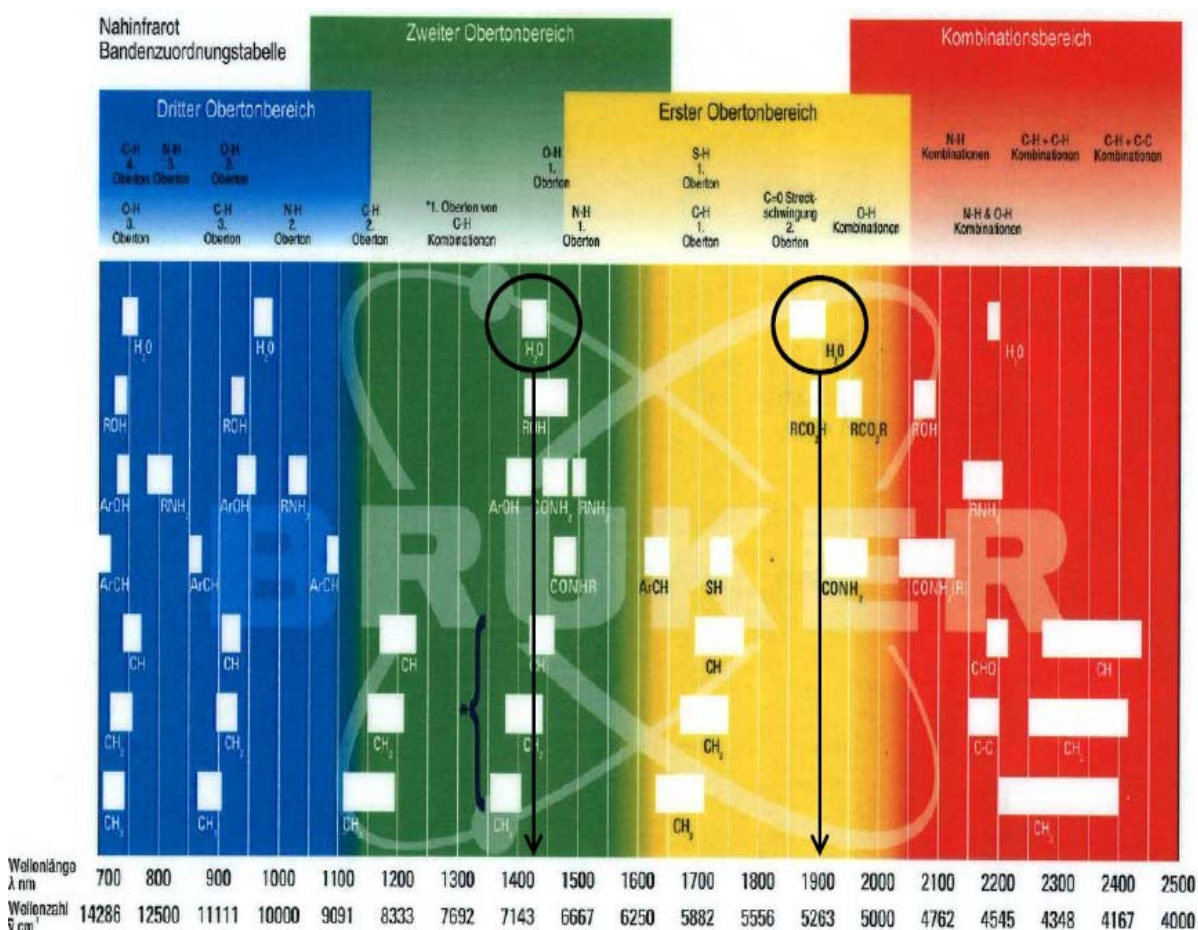
Iz grafa 31 lahko vidimo, da je pri nekaterih mešanica krivulja standardne deviacije razlik med NIR spektri potrebovala več časa, da se je umirila (npr. zelena krivulja), medtem ko so bile druge krivulje nizke in umirjene že po cca 73 obratu mešalnika oz po cca 447 sekundah mešanja.



Slika 31: Vse krivulje spreminjanja standardnih deviacij (MBSD) razlik med NIR spektri

4.3. KVANTITATIVNA OBDELAVA SPEKTROV

Kvantitativno obdelavo spektrov smo izvedli s pomočjo računalniškega programa TQ Analyst in z uporabo PLS metode, s katero izločimo nelinearnost povzročeno zaradi različnih površin delcev (grobi, fini delci). Spektre smo tudi matematično obdelali s pomočjo SNV transformacije in prvega odvoda. Modeliranje smo razdelili v tri valovna območja, pri tem pa smo želeli predvsem ugotoviti, katere dele spektrov je najbolje uporabiti za kvantitativno analizo in katera območja spektrov izločiti, ker bi lahko vplivali na pravilnost rezultatov.

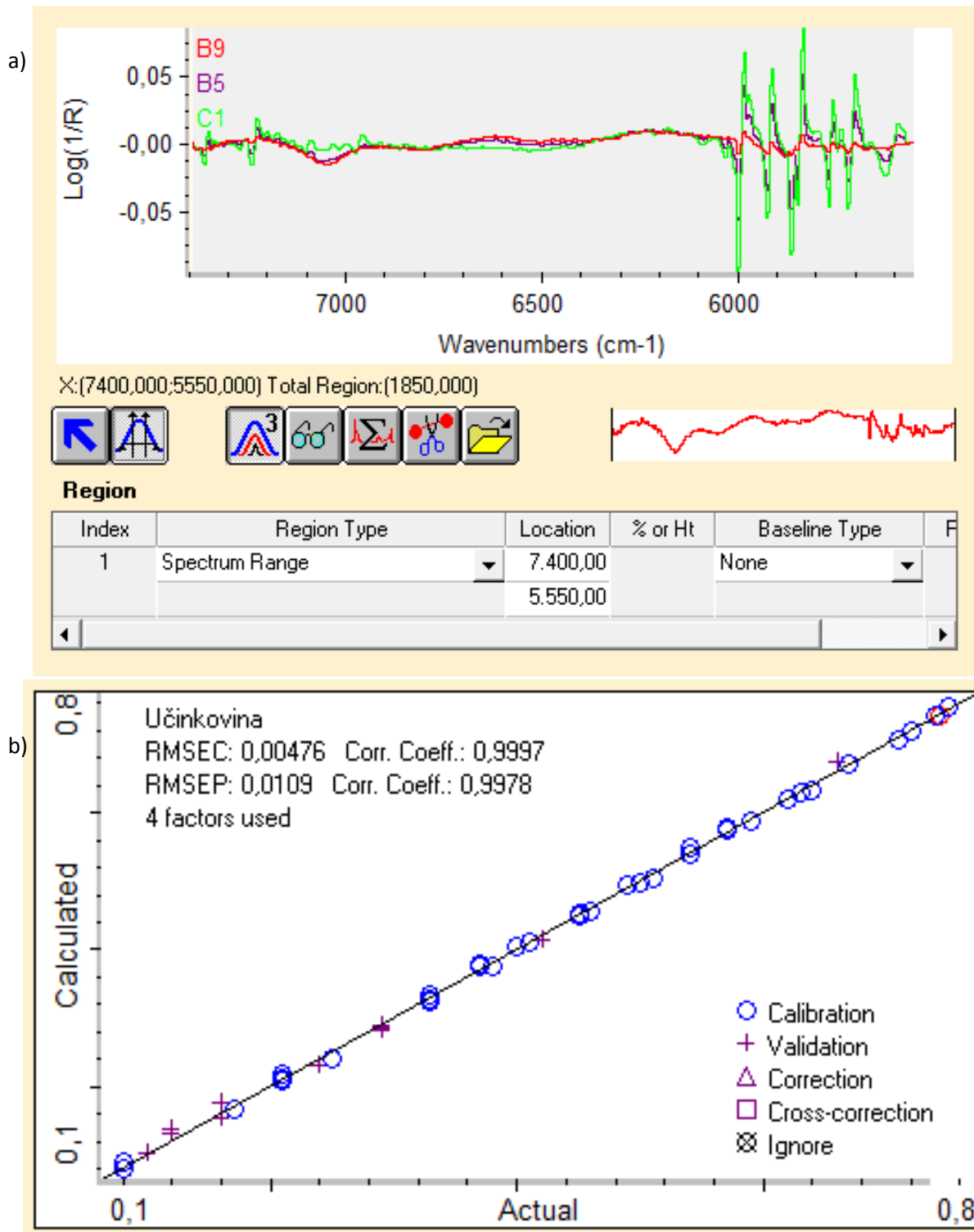


Slika 32: Absorpcijski trakovi funkcionalnih skupin v NIR območju

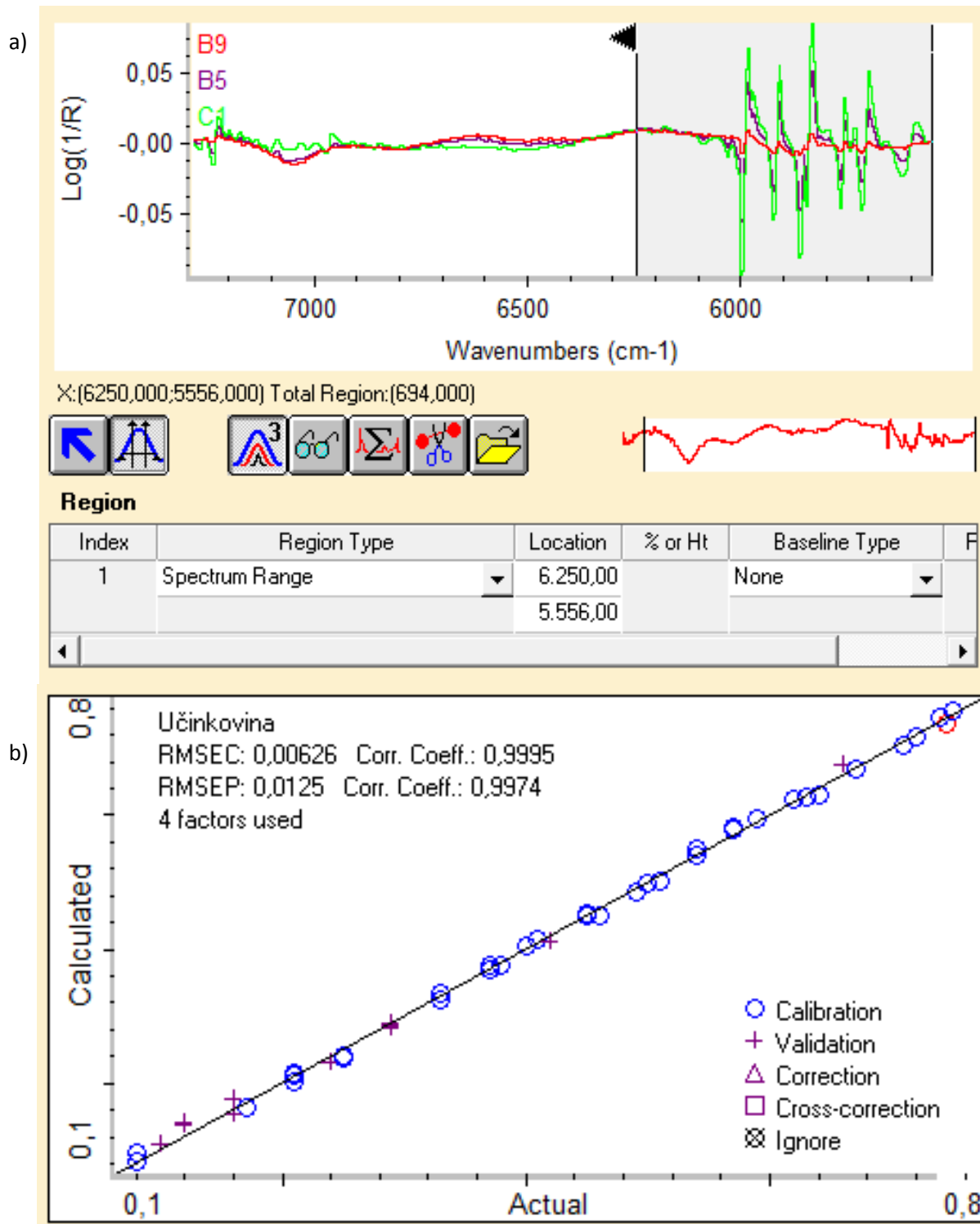
Uporabljeni NIR inštrument ima spektralno območje med $7400\text{--}5550\text{ cm}^{-1}$, v tem območju pa lahko vidimo področja pomembnih funkcionalnih skupin npr. CH_3 , CH_2 in CH skupin in področja vrhov vode (slika 32). Pri modeliranju smo tako uporabili različna območja:

- celotno valovno območje NIR inštrumenta, torej $7400\text{--}5550\text{ cm}^{-1}$;
- območje CH_3 , CH_2 in CH , ki se ne pokrivajo z območjem vode, torej $6250\text{--}5556\text{ cm}^{-1}$;
- nekoliko ožje območje od celotnega valovnega območja NIR spektra, torej $7143\text{--}5720\text{ cm}^{-1}$ (slika 31).

Tako smo lahko preverili vpliv prisotnih vrhov vode na končne rezultate, z nekoliko ožjim območjem od celotnega območja NIR inštrumenta pa smo lahko preverili ali ima NIR inštrument večji šum ob robovih svojih valovnih dolžin.

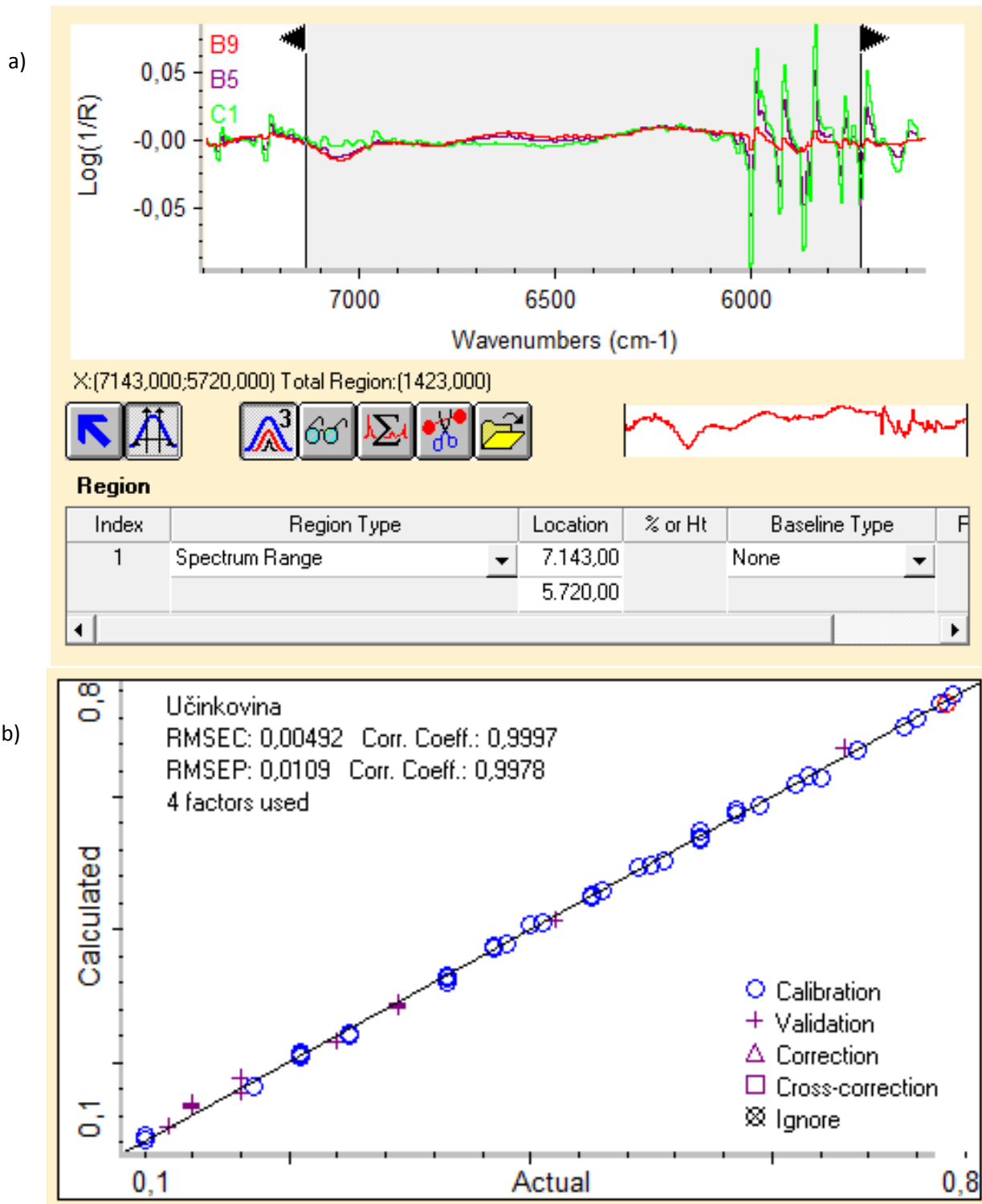
Celotno valovno območje NIR inštrumenta 7400–5550 cm^{-1} 

Slika 33: a) Izbrane regije – celotno NIR območje; b) Kalibracijska krivulja – uporabljeni spektri celotne NIR regije

Območje CH₃, CH₂ in CH skupin 6250–5556 cm⁻¹

Slika 34: a) Izbrane regije CH skupin; b) Kalibracijska krivulja – uporabljena regija CH skupin

Nekoliko ožje območje od celotnega valovnega območja NIR spektra, torej $7143\text{--}5720\text{ cm}^{-1}$



Slika 35: a) Izbrana nekoliko ožja regija od celotnega območja NIR; b) Kalibracijska krivulja – nekoliko ožje NIR območje

Izbrano zmes smo obdelali z vsemi tremi modeli in tako preverili, kateri model daje najbolj pravilne rezultate vsebnosti učinkovine med mešanjem, pri tem pa smo se osredotočili predvsem na zadnjih nekaj obratov mešanja (preglednica VIII).

O – Zaporedno število obrata mešalnika med mešanjem

A – Model A: Celotno valovno območje NIR inštrumenta 7400–5550 cm^{-1}

B – Model B: Območje CH_3 , CH_2 in CH skupin 6250–5556 cm^{-1}

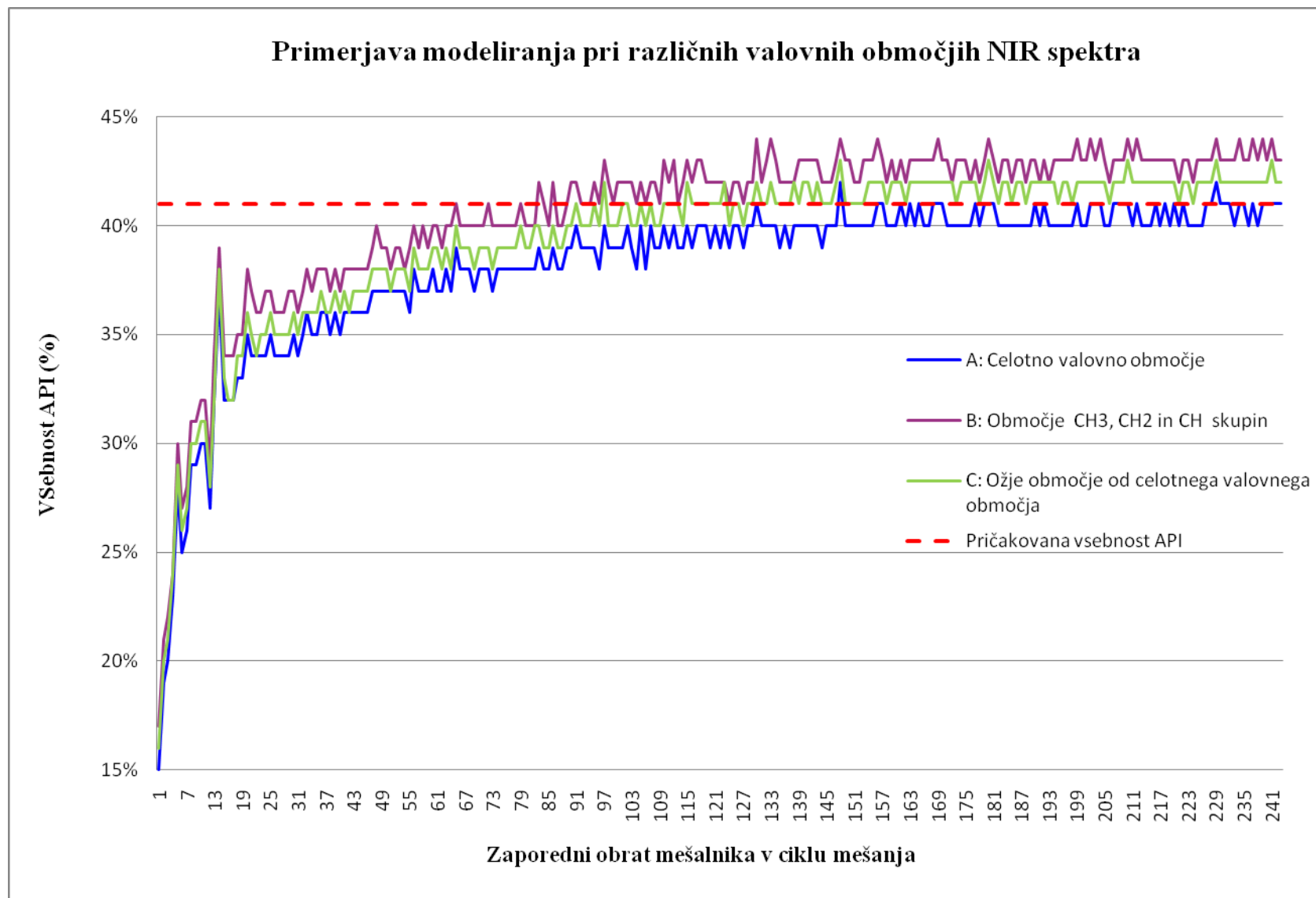
C – Model C: Nekoliko ožje območje od celotnega valovnega območja NIR spektra, torej 7143–5720 cm^{-1}

Preglednica VIII: Rezultati kvantitativne obdelave (vsebnost API v deležu) NIR spektrov od vsakega zaporednega obrata mešalnika enega mešanja z uporabo vseh treh modelov (A, B, C)

O	A	B	C	O	A	B	C	O	A	B	C	O	A	B	C
1	0,15	0,17	0,16	62	0,37	0,39	0,38	123	0,4	0,42	0,42	184	0,4	0,43	0,42
2	0,19	0,21	0,2	63	0,38	0,4	0,39	124	0,39	0,41	0,4	185	0,4	0,42	0,41
3	0,2	0,22	0,21	64	0,37	0,4	0,38	125	0,4	0,42	0,41	186	0,4	0,43	0,42
4	0,23	0,24	0,24	65	0,39	0,41	0,4	126	0,4	0,42	0,41	187	0,4	0,43	0,42
5	0,28	0,3	0,29	66	0,38	0,4	0,39	127	0,39	0,41	0,4	188	0,4	0,42	0,41
6	0,25	0,27	0,26	67	0,38	0,4	0,39	128	0,4	0,42	0,41	189	0,4	0,43	0,42
7	0,26	0,28	0,27	68	0,38	0,4	0,39	129	0,4	0,42	0,41	190	0,41	0,43	0,42
8	0,29	0,31	0,3	69	0,37	0,4	0,38	130	0,41	0,44	0,42	191	0,4	0,42	0,42
9	0,29	0,31	0,3	70	0,38	0,4	0,39	131	0,4	0,42	0,41	192	0,41	0,43	0,42
10	0,3	0,32	0,31	71	0,38	0,4	0,39	132	0,4	0,43	0,41	193	0,4	0,42	0,42
11	0,3	0,32	0,31	72	0,38	0,41	0,39	133	0,4	0,44	0,42	194	0,4	0,43	0,42
12	0,27	0,29	0,28	73	0,37	0,4	0,38	134	0,4	0,43	0,41	195	0,4	0,43	0,41
13	0,32	0,34	0,32	74	0,38	0,4	0,39	135	0,39	0,42	0,41	196	0,4	0,43	0,42
14	0,37	0,39	0,38	75	0,38	0,4	0,39	136	0,4	0,42	0,41	197	0,4	0,43	0,42
15	0,32	0,34	0,33	76	0,38	0,4	0,39	137	0,39	0,42	0,41	198	0,4	0,43	0,41
16	0,32	0,34	0,32	77	0,38	0,4	0,39	138	0,4	0,42	0,42	199	0,41	0,44	0,42
17	0,32	0,34	0,32	78	0,38	0,4	0,39	139	0,4	0,43	0,41	200	0,4	0,43	0,42
18	0,33	0,35	0,34	79	0,38	0,41	0,4	140	0,4	0,43	0,42	201	0,4	0,43	0,42
19	0,33	0,35	0,34	80	0,38	0,4	0,39	141	0,4	0,43	0,42	202	0,41	0,44	0,42
20	0,35	0,38	0,36	81	0,38	0,4	0,39	142	0,4	0,43	0,41	203	0,41	0,43	0,42
21	0,34	0,37	0,35	82	0,38	0,4	0,4	143	0,4	0,43	0,42	204	0,41	0,44	0,42
22	0,34	0,36	0,34	83	0,39	0,42	0,4	144	0,39	0,42	0,41	205	0,4	0,43	0,42
23	0,34	0,36	0,35	84	0,38	0,41	0,39	145	0,4	0,42	0,41	206	0,4	0,42	0,41
24	0,34	0,37	0,35	85	0,38	0,4	0,39	146	0,4	0,42	0,41	207	0,41	0,43	0,42

25	0,35	0,37	0,36	86	0,39	0,42	0,4	147	0,4	0,43	0,42	208	0,41	0,43	0,42
26	0,34	0,36	0,35	87	0,38	0,4	0,39	148	0,42	0,44	0,43	209	0,41	0,43	0,42
27	0,34	0,36	0,35	88	0,38	0,4	0,39	149	0,4	0,43	0,41	210	0,41	0,44	0,43
28	0,34	0,36	0,35	89	0,39	0,41	0,4	150	0,4	0,43	0,41	211	0,4	0,43	0,42
29	0,34	0,37	0,35	90	0,39	0,42	0,4	151	0,4	0,42	0,41	212	0,41	0,44	0,42
30	0,35	0,37	0,36	91	0,4	0,42	0,41	152	0,4	0,42	0,41	213	0,4	0,43	0,42
31	0,34	0,36	0,35	92	0,39	0,41	0,4	153	0,4	0,43	0,41	214	0,4	0,43	0,42
32	0,35	0,37	0,36	93	0,39	0,41	0,4	154	0,4	0,43	0,42	215	0,4	0,43	0,42
33	0,36	0,38	0,36	94	0,39	0,41	0,4	155	0,4	0,43	0,42	216	0,41	0,43	0,42
34	0,35	0,37	0,36	95	0,39	0,42	0,41	156	0,41	0,44	0,42	217	0,4	0,43	0,42
35	0,35	0,38	0,36	96	0,38	0,41	0,4	157	0,41	0,43	0,42	218	0,41	0,43	0,42
36	0,36	0,38	0,37	97	0,4	0,43	0,42	158	0,4	0,42	0,41	219	0,4	0,43	0,42
37	0,36	0,38	0,36	98	0,39	0,42	0,4	159	0,4	0,43	0,42	220	0,41	0,43	0,42
38	0,35	0,37	0,36	99	0,39	0,41	0,4	160	0,4	0,42	0,42	221	0,4	0,42	0,41
39	0,36	0,38	0,37	100	0,39	0,42	0,4	161	0,41	0,43	0,42	222	0,41	0,43	0,42
40	0,35	0,37	0,36	101	0,39	0,42	0,41	162	0,4	0,42	0,41	223	0,4	0,43	0,42
41	0,36	0,38	0,37	102	0,4	0,42	0,41	163	0,41	0,43	0,42	224	0,4	0,42	0,41
42	0,36	0,38	0,36	103	0,39	0,42	0,4	164	0,4	0,43	0,42	225	0,4	0,43	0,42
43	0,36	0,38	0,37	104	0,38	0,41	0,4	165	0,41	0,43	0,42	226	0,4	0,43	0,42
44	0,36	0,38	0,37	105	0,4	0,42	0,41	166	0,4	0,43	0,42	227	0,41	0,43	0,42
45	0,36	0,38	0,37	106	0,38	0,41	0,4	167	0,4	0,43	0,42	228	0,41	0,43	0,42
46	0,36	0,38	0,37	107	0,4	0,42	0,41	168	0,41	0,43	0,42	229	0,42	0,44	0,43
47	0,37	0,39	0,38	108	0,39	0,42	0,4	169	0,41	0,44	0,42	230	0,41	0,43	0,42
48	0,37	0,4	0,38	109	0,39	0,41	0,4	170	0,41	0,43	0,42	231	0,41	0,43	0,42
49	0,37	0,39	0,38	110	0,4	0,43	0,41	171	0,4	0,43	0,42	232	0,41	0,43	0,42
50	0,37	0,39	0,38	111	0,39	0,42	0,41	172	0,4	0,42	0,42	233	0,4	0,43	0,42
51	0,37	0,38	0,37	112	0,4	0,43	0,41	173	0,4	0,43	0,41	234	0,41	0,44	0,42
52	0,37	0,39	0,38	113	0,39	0,41	0,41	174	0,4	0,43	0,42	235	0,41	0,43	0,42
53	0,37	0,39	0,38	114	0,39	0,42	0,4	175	0,4	0,43	0,42	236	0,4	0,43	0,42
54	0,37	0,38	0,38	115	0,4	0,43	0,42	176	0,4	0,42	0,42	237	0,41	0,44	0,42
55	0,36	0,39	0,37	116	0,39	0,42	0,41	177	0,41	0,43	0,42	238	0,4	0,43	0,42
56	0,38	0,4	0,39	117	0,4	0,43	0,41	178	0,4	0,42	0,41	239	0,41	0,44	0,42
57	0,37	0,39	0,38	118	0,4	0,43	0,41	179	0,41	0,43	0,42	240	0,41	0,43	0,42
58	0,37	0,4	0,38	119	0,4	0,42	0,41	180	0,41	0,44	0,43	241	0,41	0,44	0,43
59	0,37	0,39	0,38	120	0,39	0,42	0,41	181	0,41	0,43	0,42	242	0,41	0,43	0,42
60	0,38	0,4	0,39	121	0,4	0,42	0,41	182	0,4	0,42	0,41	243	0,41	0,43	0,42
61	0,37	0,4	0,39	122	0,39	0,42	0,41	183	0,4	0,43	0,42				

Podatke iz zgornje preglednice smo vnesli na spodnji graf (slika 35), da smo lahko videli, kakšne so razlike v krivuljah vsebnosti učinkovine in katera krivulja se najbolj približa dejanski natehtani količini učinkovine v obliki kisline.



Slika 36: Krivulje kvantitativne obdelave spektrov enega mešanja z uporabo vseh treh modelov

Na podlagi dobljenih rezultatov in grafov smo se odločili za uporabo celotnega valovnega območja NIR inštrumenta, torej območja valovnih dolžin 7400–5550 cm^{-1} , ker se je v tem primeru končna vsebnost aktivne učinkovine v mešanici najbolj približala pričakovani vsebnosti (41 %).

Za izdelavo modela za kvantitativno obdelavo spektrov smo tako poleg SNV transformacije in prvega odvoda uporabili celotno valovno območje NIR inštrumenta. S pomočjo izdelane kalibracijske krivulje smo izvedli kvantifikacijo na vseh posnetih spektrih zmesi in tako dobili izračunano vsebnost v vsakem obratu mešalnika.

Ker nas poleg spremljanja samega procesa mešanja zanima predvsem končna vsebnost učinkovine v mešanici, smo zbrali podatke za vsebnosti učinkovine, izmerjene z NIR inštrumentom v zadnjih 3 obratih mešalnika, te podatke pa smo potem še primerjali z rezultati končne vsebnosti, izmerjene s pomočjo HPLC analize.

Iz spodnje preglednice (preglednica IX) lahko vidimo, da so vse vsebnosti aktivne učinkovine v zadnjih treh obratih pri vseh zmesih, ustrezne glede na zahtevane meje. Rezultati vsebnosti učinkovine iz HPLC analize so v vseh primerih nižji kot rezultati, ki jih je izmeril NIR inštrument med mešanjem. Do teh razlik je lahko prišlo zaradi napak pri snemanju standardnih vzorcev, zaradi samega modeliranja, ali pa zaradi slabe reprezentativnosti vzorcev pri vzorčenju s sondo za HPLC analizo.

Preglednica IX: Zadnje tri vrednosti vsebnosti učinkovine pri mešanju vseh mešanic

Mešanica	Specifikacijske meje za HPLC vsebnost	Vsebnost učinkovine (NIR) v zadnjih treh obratih mešalnika (%)			Vsebnost HPLC (%)
		n-2	n-1	n	
22maj_1	39–43 %	42	42	42	40,6
22maj_2	39–43 %	41	42	42	40,8
22maj_3	39–43 %	44	43	43	41
23maj_1	39–43 %	43	43	43	41,5
24maj_1	39–43 %	43	43	42	41,1
28maj_1	39–43 %	41	41	41	40,9
28maj_2	39–43 %	42	42	42	40,5
29maj_1	39–43 %	43	43	43	40,7

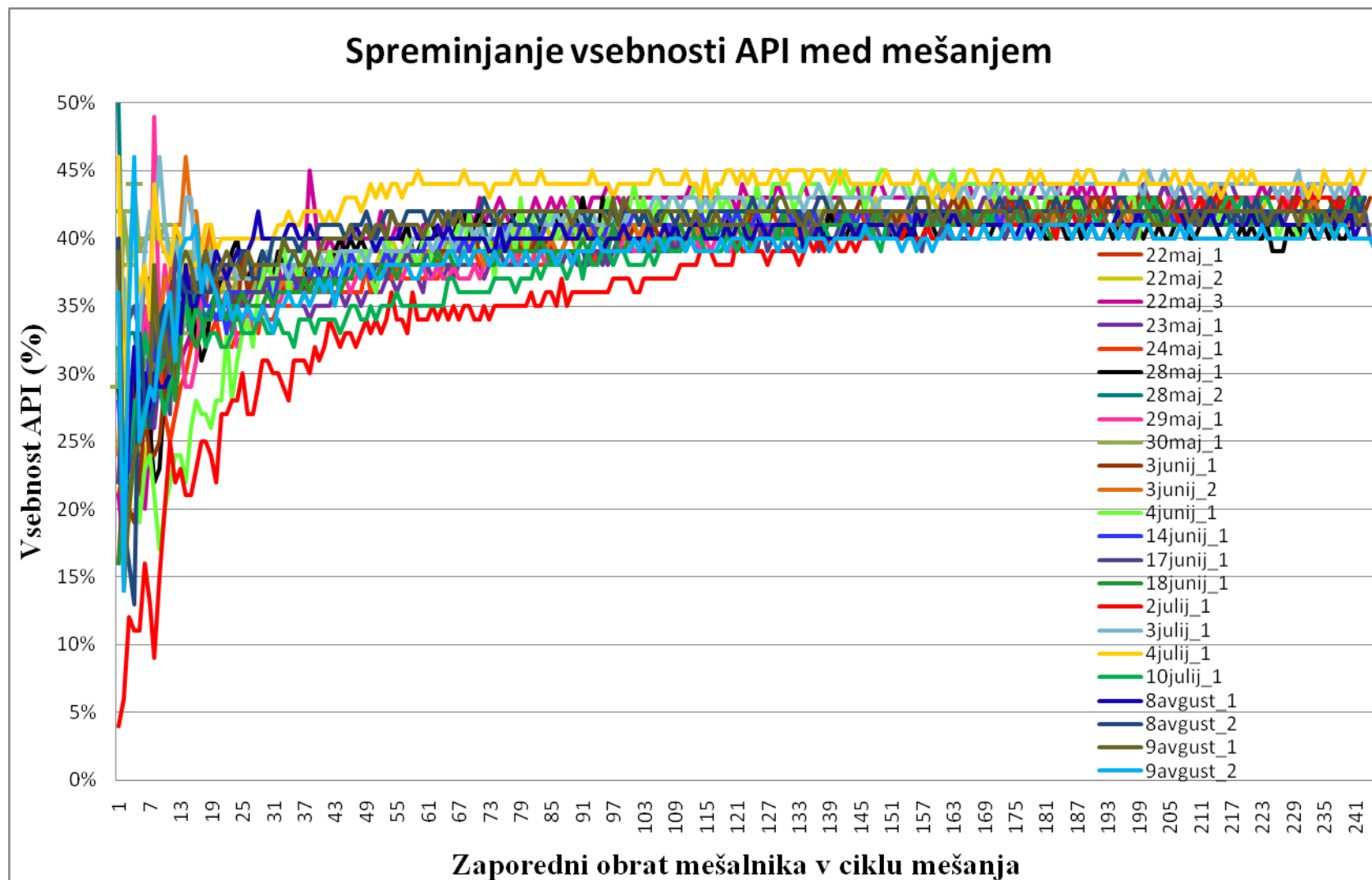
30maj_1	39–43 %	41	41	41	40,5
3junij_1	39–43 %	43	42	43	40,5
3junij_2	39–43 %	42	42	41	40,3
4junij_1	39–43 %	41	41	41	40,9
14junij_1	39–43 %	42	42	42	41,2
17junij_1	39–43 %	41	42	40	41,2
18junij_1	39–43 %	42	41	41	41,3
2julij_1		43	43	43	42,3
	≥ 40 %				
3julij_1		44	44	44	42,7
	≥ 40 %				
4julij_1		44	44	45	42,2
	≥ 40 %				
10julij_1	39–43 %	42	43	43	40,4
8avgust_1	39–43 %	40	41	41	40,9
8avgust_2	39–43 %	43	42	43	40,7
9avgust_1	39–43 %	42	41	42	41,0
9avgust_2	39–43 %	40	40	39	41,4

*n – celotno število obratov mešalnika v enem procesu mešanja

Želeli smo tudi preveriti, kakšne so razlike med krivuljami vsebnosti učinkovine pri različnih zmesih, zato smo na spodnji graf (slika 37) vnesli podatke spreminjanja vsebnosti učinkovine med mešanjem za vsako serijo posebej.

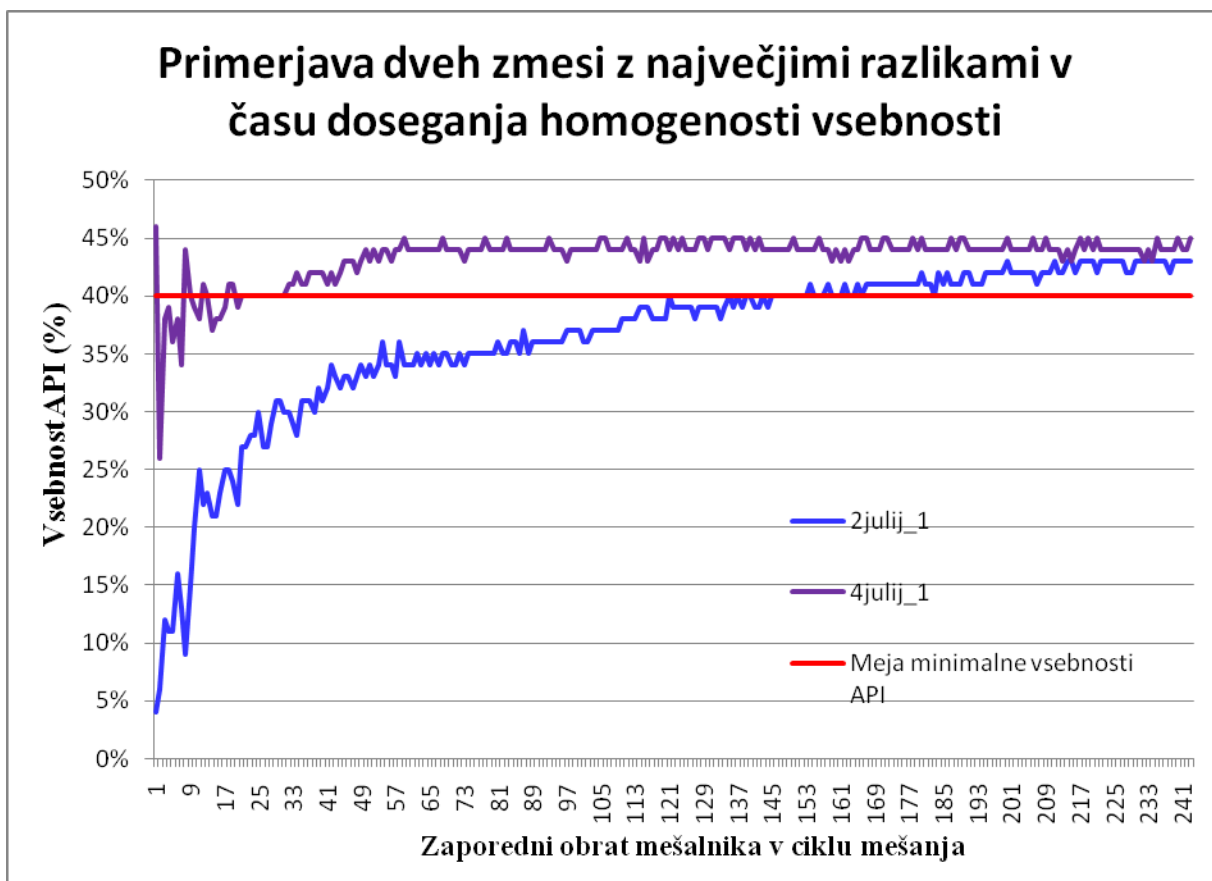
Zmes je homogeno premešana, ko se krivulja vsebnosti umiri in ni več viden trend naraščanja. Tako lahko iz spodnjega grafa (slika 37) vidimo, da so nekatere zmesi zahtevale daljše mešanje, da smo dosegli homogeno vsebnost (npr. mešanica 2. julij_1), medtem ko so se nekatere zmesi do konstantne vsebnosti premešale hitreje (npr. mešanica 4. julij_1).

Poleg tega vidimo tudi interval med končnimi vsebnostmi, ki se razteza med 39 % in 45 %.



Slika 37: Graf spreminjanja vsebnosti učinkovine za vse posnete zmesi

Na spodnjem grafu (slika 38) so prikazane krivulje spreminjanja vsebnosti učinkovine med mešanjem, ki najbolj odstopajo od ostalih krivulj mešanja.



Slika 38: Primerjava zmesi z največjimi odstopanji v času doseganja homogene vsebnosti

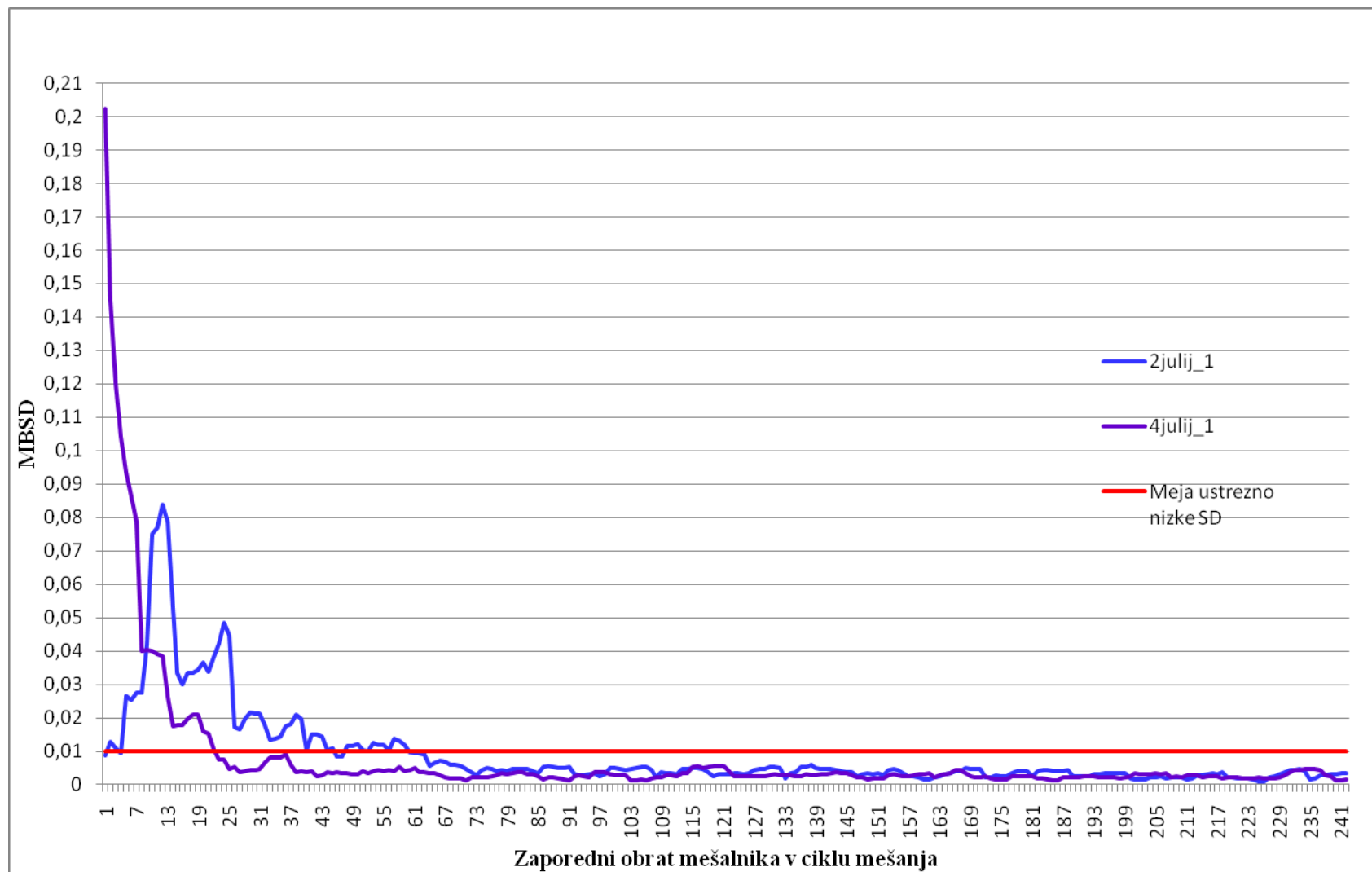
Da bi ugotovili, zakaj je prišlo do tako significantne razlike med zgoraj prikazanima krivuljama mešanja, smo preverili fizikalne lastnosti učinkovine v obeh zmesih (preglednica X).

Preglednica X: Fizikalne lastnosti učinkovine v dveh zmesih z največjimi odstopanji v času doseganja homogene vsebnosti

	2julij_1	4julij_1
Voda	0,22%	0,27%
Nasipna gostota (g/cm³)	0,33	0,49
Zbita gostota (g/cm³)	0,5	0,7
Velikost delcev	99µm	95 µm

Iz fizikalnih lastnosti uporabljenih serij učinkovine lahko vidimo razlike v nasipni in zbiti gostoti. Mešanica 2. julij_1 je imela najmanjšo nasipno in zbito gostoto, zato je tista masa materiala zavzela večji volumen v mešalniku in je zato potrebovala daljši čas, da se je material homogeno premešal. Mešanica 4. julij_1 pa je imela večjo nasipno in zbito gostoto materiala, zato je material zasedel manj prostora v mešalniku in se je tako hitreje premešala.

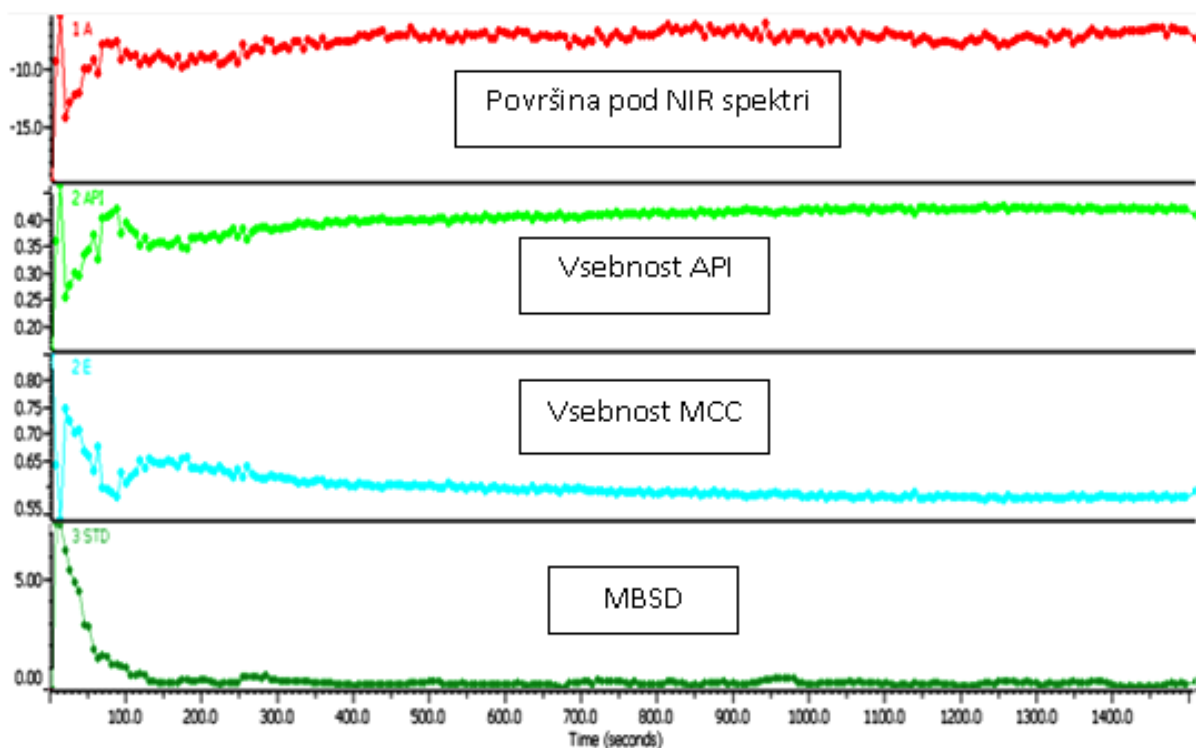
Želeli smo preveriti tudi ali se razlike v fizikalnih lastnostih in s tem razlike v hitrosti doseganja homogenosti vsebnosti vidijo tudi na grafih standardne deviacije razlik med NIR spektri. Izrisali smo spodnji graf (slika 39), iz katerega lahko vidimo, da je zmes 2. julij_1, ki je potrebovala več časa, da je dosegla homogeno vsebnost, zahtevala tudi več časa, da je njena krivulja standardne deviacije razlik med NIR spektri padla pod predpisano mejo 0,01 in se umirila.



Slika 39: Graf spreminjanja standardne deviacije (MBSD) razlik med NIR spektri zmesi, katerih krivulji spreminjanja vsebnosti učinkovine sta najbolj odstopali

4.4. PRENOS MODELA V PROCES MEŠANJA

V naslednjem koraku smo model za kvantitativno analizo vstavili neposredno v program mešanja, da smo lahko spremljali vsebnost učinkovine in pomožne snovi med samim mešanjem. Računalniški program nam je tako sprotno med mešanjem poleg površine pod NIR spektri (krivulja 1) in standardne deviacije razlik med NIR spektri (MBSD) (krivulja 4) prikazoval še vsebnost učinkovine (API) (krivulja 2) in vsebnost pomožne snovi mikrokrystalne celuloze (MCC) (krivulja 3).



Slika 40: Prikazovanje spreminjanja: a) Površine pod NIR spektri; b) Vsebnost učinkovine v deležih; c) Vsebnost pomožne snovi (mikrokristalna celuloza) v deležih; d) Standardne deviacije razlik med NIR spektri (MBSD)

Pri določevanju končne točke mešanja moramo upoštevati oba parametra, tako krivuljo homogenosti vsebnosti kot tudi krivuljo standardne deviacije razlik med NIR spektri. Mešanje bi tako lahko ustavili, ko bi se krivulja vsebnosti učinkovine ustalila med 39 in 43 % in hkrati krivulja standardne deviacije padla pod 0,01 in se ustalila. Ker je krivulja standardne deviacije razlik med NIR spektri pri vseh zmesih padla pod vrednost 0,01 že na polovici časa mešanja

(slika 31), smo se osredotočili predvsem na doseganje drugega parametra, torej konstantna vsebnost učinkovine v specifikacijskih mejah.

Takšno spremljanje procesa nam omogoča, da lahko glede na rezultate ustrezno skrajšamo, ali podaljšamo čas mešanja. Končno točko mešanja bi tako operater določil sam, glede na krivuljo standardne deviacije razlik med NIR spektri in glede na krivuljo spreminjanja vsebnosti učinkovine. Da bi zmanjšali odgovornost operaterjev, bi bilo še boljše, če bi proces avtomatizirali tako, da bi računalniški program glede na določene kriterije sam ustavil mešanje, ko bi bila homogenost vsebnosti dosežena.

5. ZAKLJUČEK

Namen magistrske naloge je bil izdelati kvantitativni model za določevanje homogenosti vsebnosti učinkovine v zmesih po mešanju in med samim procesom mešanja, ter ugotoviti primernost uporabe NIR spektroskopije kot alternativne analitske metode do sedaj uporabljeni HPLC analizi.

NIR spektroskopija je neinvazivna metoda, ker spektre posnamemo brez predhodnega vzorčenja, s tem pa se izognemo možni segregaciji delcev zaradi poseganja v material z vzorčevalno sondo. NIR spektroskopija je tudi nedestruktivna metoda, saj vzorcev ne raztapljamo in razredčujemo, s tem pa je tudi ekološka metoda, saj se izognemo uporabi nekaterih okolju in ljudem škodljivih topil.

Dokazali smo, da lahko s pomočjo brezžičnega NIR inštrumenta uspešno spremljamo sam proces mešanja. Ugotovili smo, da je doslej določeni optimalni čas mešanja 25 minut ustrezen, saj so se vse zmesi v tem času homogeno premešale. Smo pa ugotovili, da je možna prilagoditev časa mešanja glede na posamezno zmes, saj so se nekatere zmesi premešale do homogene vsebnosti hitreje. Ta razlika je izhajala iz nekaterih razlik v fizikalnih lastnostih zmesi oz. sestavin. Iz tega zaključujemo, da bi lahko pri posameznih zmesih čas mešanja do homogenosti tudi ustrezno skrajšali.

Z NIR spektroskopijo lahko spremljamo tudi vpliv posameznih fizikalnih lastnosti vključenih sestavin na potek mešanja. Preko tega bi lahko preverjali ustreznost surovin različnih dobaviteljev oz. razlike med različnimi serijami učinkovin, in dodatno te razlike tudi kompenzirali s podaljšanim ali skrajšanim časom mešanja.

Bližnja infrardeča (NIR) spektroskopija se je izkazala kot ustrezna analitska metoda za ugotavljanje končne vsebnosti učinkovine. Poleg tega je tudi preprosta in hitra metoda, s katero je preko kvantitativnega modeliranja in kalibracijske krivulje mogoče dobiti podatke o vsebnosti učinkovine v zmesi že v nekaj sekundah. Čas prihranimo tudi s tem, ker dodatno vzorčenje in priprava vzorcev nista potrebni, analize pa so opravljene na samem mestu proizvodnega procesa brez vmesnega transporta do analitskega laboratorija.

6. LITERATURA

1. Kemeny G, Stuessy G, Middleton Research, 2012
Elektronski vir:
<http://www.pharmamanufacturing.com/articles/2012/001.html?page=full> [dostop 17.10.2013]
2. Harnby N, Edwards M F, Nienow A W: Mixing in the process industry 2nd edition, Butterworth-Heinemann, London, 1992: 10-22
3. Deveswaran R, Bharath S, Basavaraj B V, Abraham S, Furtado S, Madhavan V: Concepts and Techniques of Pharmaceutical Powder Mixing Process : A Current Update, Research Journal of Pharmacy And Technology, 2, 2009: 245-9
4. Paul L E, Atiemo-Obeng V , Kresta M S: Handbook of Industrial Mixing: Science and Practice. John Wiley & Sons Inc, New Jersey, 2004: 887-965
5. Rhodes M: Introduction to Particle Technology, 2nd Edition, John Wiley & Son, Chichester, 2008: 293-311
6. Araceli Martinez Heredia L: Batch and continuous blending of particulate material studied by Near-Infrared spectroscopy, doktorska dizertacija, Philosophisch – Naturwissenschaftlichen Fakultät, Basel, 2013: IX-X, 3-65
7. Muzzio F, Robinson P, Wightman C, Sampling practices in powder blending, International Journal of Pharmaceutics, 155, 1997: 153–78
8. Shree Bhagwati Pharma Machinery Company
Elektronski vir: http://www.pharmaceuticalmachinery.in/pharmaceutical_mixer.htm
[Dostop 23.10.2013]
9. Prism Pharma Machinery
Elektronski vir: <http://www.mixerblenderdryer.com/bin-blender-conta-blender.html>
[dostop 23.12.2013]
10. Swarbrick J, Boylan C J: Encyclopedia of Pharmaceutical Technology 2nd edition, Marcel Dekker Inc., New York-Basel, 2002: 1795-1810
11. Forcinio H: Pharmaceutical industry embraces NIR technology. Spectroscopyonline, 2003

12. Hiter C: Optimizacija procesa sušenja z uvedbo procesne analitične tehnologije (PAT), diplomska naloga, Maribor: Univerza v Mariboru, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, 2011
13. Conley RT: Infrared spectroscopy, Allyn and Bacon, Boston 1972 : 247-284
14. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo
Elektronski vir: <http://www.fkkt.uni-lj.si/attachments/dsk6496/03-infra.pdf> [Dostop 5.11.2012]
15. Reich G: Near-infrared spectroscopy and imaging: basic principles and pharmaceutical applications, Advanced drug delivery reviews ,57, 2005: 1109-43
16. Siesler W H, Ozaki Y, Kawata S, Heise M H: Near-Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications, WILEY-VCH Verlag GmbH, Wienheim, 2002: 1-10, 247-252
17. Merkač B: Kemometrijska karakterizacija farmacevtskih spojin z bližnjo infrardečo spektroskopijo, diplomska naloga, Maribor: Univerza v Mariboru, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, 2010
18. Jørgensen A, Clustering excipient near infrared spectra using different chemometric Seminar summary, 2000:1-10
19. Lukač H: Uporaba procesnega NIR spektrometra pri spremljanju sušenja v vrtnično slojnim sušilniku, diplomska naloga, Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, 2002
20. Elektronski dostop: <http://en.wikipedia.org/wiki/Overfitting> [dostop 27.12.2013]
21. Rowe C R, Sheskey P J, Quinn M J: Handbook of pharmaceutical excipients (sixth edition), RPS publishing, London, 2009: 129-33
22. Elektronski vir: http://sl.wikipedia.org/wiki/Klavulanska_kislina [dostop 21.11.2013]

23. Lee Y, Kim D, Ahn C, Scholtz E: Pharmaceutical formulations of clavulanic acid, United States Patent Application Publication, 2009
24. Thermo Fisher Scientific
Elektronski vir:
http://www.thermoscientific.fr/eThermo/CMA/PDFs/Product/productPDF_57624.PDF
[dostop 27.12.2013]
25. Elektronski vir: http://en.wikipedia.org/wiki/High-performance_liquid_chromatography
[26.11.2013]
26. Sekulic S S, Wakeman J, Doherty P, Hailey P: Automated system for the on-line monitoring of powder blending processes using near-infrared spectroscopy. Part II. Qualitative approaches to blend evaluation. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 17, 1998: 1285-309